



**Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,  
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**O TRATAMENTO DA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO II:  
TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS  
COMO ABORDAGEM TERAPÊUTICA**

**Anneliese Lopes Barth**

**Rio de Janeiro  
Julho de 2017**



**Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,  
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**O TRATAMENTO DA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO II:  
TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS  
COMO ABORDAGEM TERAPÊUTICA**

**Anneliese Lopes Barth**

Tese apresentada à Pós-  
graduação em Pesquisa  
Aplicada à Saúde da Criança e  
da Mulher, como pré-requisito  
para obtenção do título de  
Doutor em Ciências

Orientador: Dafne Dain Gandelman Horovitz

**Rio de Janeiro  
Julho de 2017**

CIP - Catalogação na Publicação

Barth, Anneliese Lopes .

O tratamento da mucopolissacaridose tipo II: transplante de células-tronco hematopoiéticas como abordagem terapêutica / Anneliese Lopes Barth. - Rio de Janeiro, 2017.

93 f.; il.

Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Rio de Janeiro - RJ, 2017.

Orientadora: Dafne Dain Gandelman Horowitz.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Mucopolissacaridose. 2. Transplante de células-tronco hematopoiéticas. 3. Neurocognição. I. Título.

## AGRADECIMENTOS

À Dra Dafne Dain Gandelman Horovitz, quem muito admiro, pela orientação, pelo apoio ao longo deste trabalho e pelos ensinamentos de todos os dias. Obrigada principalmente pela amizade.

À Gabriele Gomes Parajara, pela confiança e disponibilidade em responder às dúvidas

Às Dras. Patricia Santana Correia e Daniele Koeller Rodrigues Vieira pelas valiosas contribuições durante a qualificação, que ajudaram a definir os rumos deste trabalho.

Às enfermeiras Celma Dias Maciel, Ester Nunes Platenik, Iliane Oliveira de Paula e Rosângela dos Santos Ferreira pelo carinho e apoio. A competência e comprometimento de vocês me deixaram tranqüila nos momentos que estive ausente.

À Paula de Almeida Thomazinho, pela amizade e troca de experiências durante este período.

Aos colegas residentes Laila Maria Silveira Gallo de Souza e Yuri Costa de Araújo Moraes e à ex-residente Luiza Lorena Pires Ramos, pelo convívio e estímulo.

Ao meu pai, *in memoriam*, por me ensinar a buscar o conhecimento; a não simplesmente acreditar+e sim saber+.

À minha mãe, pelo amor, apoio e incentivo, sempre.

Ao Pedro Gonçalves Teixeira de Carvalho, por tornar cada dia especial.

**ABREVIATURAS**

6MWT	Teste da caminhada de 6 minutos (do inglês, <i>6 minute walking test</i> )
AAV	Vírus adeno-associados
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AVD	Atividades de vida diária
BHE	Barreira hemato-encefálica
CS	Sulfato de condroitina
CMV	Citomegalovírus
CTH	Células-tronco hematopoiéticas
CVF	Capacidade vital forçada
Da	Dálmton
DDL	Doença de depósito lisossômico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DS	Sulfato de dermatan
EIM	Erros inatos do metabolismo
GAG	Glicosaminoglicanos
HS	Sulfato de heparan
ICV	Intracerebroventricular
I2S	Iduronato-2-sulfatase
Ig	Imunoglobulina
IT	Intratecal
IV	Intravenosa
KS	Sulfato de queratan
LV	Lentivírus
MPS	Mucopolissacaridose
PEDI	Inventário de avaliação pediátrica de incapacidade (do inglês, <i>Pediatric Evaluation of Disability Inventory</i> )
QD	Quociente de desenvolvimento

QI	Quociente de inteligência
RM	Ressonância magnética
RV	Retrovírus
SNC	Sistema nervoso central
$t_{1/2}$	Meia-vida
TCTH	Transplante de células-tronco hematopoiéticas
TRE	Terapia de reposição enzimática
TRS	Terapia de redução de substrato

**LISTA DE TABELAS E FIGURAS**

Tabela 1 . Classificação dos diferentes tipos de mucopolissacaridoses	15
Tabela 2 . Características dos pacientes que receberam TCTH para a síndrome de Hunter registrados no CIBMTR	35
Tabela 3 . Síntese das bases eletrônicas utilizadas, dos mecanismos de busca empregados em cada base e o número de retornos	42
Tabela 4 . Resumo das principais características de cada trabalho encontrado	55
Tabela 5 . Informações comparativas entre os membros afetados da família sobre marcos do desenvolvimento motor e cognitivo	69
Tabela 6 . Referências bibliográficas selecionadas após a busca nas bases de dados Pubmed, Lilacs, Scielo e Scopus	84
Tabela 7 . Referências bibliográficas selecionadas após leitura dos artigos da Tabela 6	86
Figura 1 . Fluxograma da seleção dos artigos	43
Figura 2 . Paciente no período neonatal. (A) Fenótipo normal como esperado. (B) Discreta gibba lombar. (C) Mão sem restrição articular	61
Figura 3 . Durante a primeira infusão (terapia de reposição enzimática) aos 10 dias de vida	62
Figura 4 . Células-tronco hematopoiéticas de cordão umbilical de doador não-aparentado prontas para o transplante (A). Paciente pouco depois do transplante de células-tronco hematopoiéticas (B)	63
Figura 5 . Excreção urinária de GAG desde o nascimento até os 7 anos de idade	64
Figura 6 . Paciente aos 7 anos de idade sem restrição articular (A), sem fenótipo de MPS (B) e sem mãos em garra (C)	65
Figura 7 . Disostose múltipla leve em paciente com MPS II transplantado aos 70 dias de vida. Mãos (A): metacarpos curtos com encontro de epífises e hipoplasia dos ossos carpo. Pelve (B): asas do íliaco arredondadas e estreitamento inferior. Ossos longos (C): defeito de modelagem com encurtamento diafisário. Crânio (D): espessamento da calvária. Coluna (E): platispondilia e projeção anterior e inferior nos corpos vertebrais da coluna lombar	66
Figura 8 . Fenótipo clínico do paciente (A), seu irmão mais velho (B) e tio (C) aos 6 anos de idade. O paciente aos 4 anos e seu irmão mais velho aos 12 anos (D). O paciente aos 7 anos e seu tio aos 20 anos (E)	70

## RESUMO

A mucopolissacaridose tipo II (MPS II) é uma doença de depósito lisossômico causada pela deficiência da atividade da enzima iduronato-2 sulfatase, que leva ao acúmulo de glicosaminoglicanos em vários órgãos e tecidos. A MPS II possui duas apresentações clínicas distintas. A mais freqüente delas, presente em cerca de 2/3 dos casos, é a forma grave, que se apresenta com deterioração neurológica progressiva, chamada de forma neuronopática. A outra é uma forma sem comprometimento neurológico, também chamada de forma não-neuronopática. A terapia de reposição enzimática (TRE) com a idursulfase alfa recombinante é atualmente o tratamento recomendado para a MPS II. Entretanto, a TRE não ultrapassa a barreira hemato-encefálica, o que limita os resultados desta modalidade terapêutica na forma neuronopática da doença. O transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) tornou-se o tratamento de escolha para a forma grave da mucopolissacaridose tipo I (MPS I), uma vez que ele é capaz de preservar a neurocognição quando critérios rígidos para a seleção dos pacientes são seguidos. Apesar dos ótimos resultados alcançados na MPS I, o TCTH não é usualmente indicado no tratamento da MPS II. Este trabalho teve por objetivo avaliar o TCTH como opção terapêutica para a forma neuronopática da MPS II, uma vez que ele seria potencialmente o único tratamento disponível atualmente capaz de proporcionar benefícios em termos neurológicos para os pacientes. Para avaliar os resultados e entender por que o TCTH tem sido rejeitado pela maioria dos especialistas, buscamos levantar todos os casos já relatados na literatura científica sobre o tema. Os dados obtidos revelaram falta de critérios na seleção dos pacientes, utilização de regimes de condicionamento e fonte de células bastante variadas, além de parâmetros de acompanhamento e desfechos de interesse pós-TCTH distintos, impossibilitando a comparação e a generalização dos resultados obtidos. Atualmente, com as altas taxas de sobrevida com enxertia, redução da toxicidade e das complicações relacionadas ao transplante, associado à seleção mais criteriosa dos pacientes, parece ser apropriado que se reconsidere o TCTH como modalidade terapêutica para a forma neuronopática da MPS II. Relatamos também um caso bem sucedido de TCTH em paciente com a forma neuronopática da MPS II. O diagnóstico pré-natal foi feito devido à história familiar de irmão e tio diagnosticados com a forma neuronopática da MPS II. Todo o acompanhamento multidisciplinar, multiprofissional e multicêntrico foi descrito. Após sete anos de acompanhamento, o paciente está saudável; apresenta peso, crescimento, perímetro cefálico e desenvolvimento motor normais para a idade. Ele apresenta sinais leves de disostose múltipla e déficit auditivo. Apesar do quociente de inteligência mensurado em sua última avaliação neuropsicológica estar aquém do esperado para a faixa etária, o mesmo encontra-se muito acima do padrão familiar dos afetados. O paciente continua apresentando ganhos cognitivos e de linguagem, é uma criança bastante funcional que freqüenta escola e tem boa qualidade de vida. Após pouco mais de uma década de experiência com a TRE e conhecendo seus benefícios e limitações, consideramos que o TCTH deva ser melhor explorado pelos especialistas e autoridades de saúde como opção terapêutica para a forma neuronopática da MPS II.

Palavras chave: Mucopolissacaridose, transplante de células-tronco hematopoiéticas, neurocognição

## ABSTRACT

Mucopolysaccharidosis type II (MPS II) is a lysosomal storage disorder caused by a deficiency in the enzyme activity of iduronate-2 sulfatase (I2S), leading to the accumulation of glycosaminoglycans, affecting multiple organs and systems. MPS II has two distinct presentations. The most frequent, present in 2/3 of the cases, is the severe form, with primary neural parenchymal disease referred as neuronopathic MPS II. The other, without neural parenchymal involvement, is known as nonneuronopathic MPS II. Enzyme replacement therapy (ERT) with recombinant idursulfase alpha is currently the treatment of choice for MPS II. However, ERT does not cross the blood brain barrier, limiting results in the neuronopathic form of the disease. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has become the treatment of choice for the severe form of MPS type I, since it can preserve neurocognition when performed early in the course of the disease. Despite good results in MPS I, HSCT is not routinely indicated for the treatment of patients with MPS II. In this work we evaluated the HSCT as treatment option for the neuronopathic form of MPS II, since it potentially is the only currently available treatment able to provide neurological benefits. In order to evaluate the results and understand the reasons why HSCT has been rejected for most specialists, we sought to find in the scientific literature all cases already published. Data showed lack of selection criteria, use of distinct conditioning regimes and cell sources, besides different follow-up parameters and outcomes, which preclude the comparison and extension of the results. Nowadays, with the high engrafted survival rates, reduction of toxicity and complications related to transplantation, together with a more judicious selection of patients, it now seems appropriate to reconsider the HSCT as a treatment option for the neuronopathic form of MPS II. We also described the seven-year follow-up of a prenatally diagnosed MPS II boy with positive family history of an older brother and uncle with the neuronopathic form, submitted to TCTH with umbilical cord blood cells at 70 days of age. At age 7 years growth charts are normal and he is very healthy, although mild signs of dysostosis multiplex are present, as well as hearing loss. Although his neuropsychological evaluation discloses a low intelligence quotient, the patient continues to show improvements in cognitive, language and motor skills, being quite functional. After more than a decade of experience with ERT, knowing its benefits and limitations, we consider that HSCT should be better investigated as a therapeutic option for the neuronopathic form of MPS II.

Key words: Mucopolysaccharidosis, hematopoietic stem cell transplantation, neurocognition

**SUMÁRIO**

1.	Introdução	10
2.	Referencial Teórico	14
2.1	As Mucopolissacaridoses	14
2.2	O Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas	17
2.3	O Tratamento das Mucopolissacaridoses	18
2.3.1	Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas	19
2.3.2	Terapia de Reposição Enzimática	22
2.3.3	Terapia de Redução de Substrato	25
2.3.4	Chaperonas	26
2.3.5	Terapia Gênica	27
2.4	Mucopolissacaridose Tipo II	29
2.4.1	Terapia de Reposição Enzimática na Mucopolissacaridose Tipo II	30
2.4.2	Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas na Mucopolissacaridose Tipo II	33
3.	Hipótese e Objetivos	37
4.	Capítulo 1: Revisão da Literatura sobre Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas na Mucopolissacaridose Tipo II	38
4.1	Materiais e Métodos	39
4.2	Resultados	41
4.3	Discussão	57
5.	Capítulo 2: Relato de Caso de Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas em Paciente com a Forma Neuronopática da Mucopolissacaridose Tipo II	60
5.1	Discussão	67
6.	Considerações Gerais	71
7.	Conclusão	73
8.	Bibliografia	74
9.	Apêndice	84
10.	Anexo	87

## 1 INTRODUÇÃO

As mucopolissacaridoses (MPS) compreendem um grupo de doenças metabólicas hereditárias caracterizadas pelo acúmulo intra-lisossômico de glicosaminoglicanos (GAG) secundário à deficiência na atividade de enzimas lisossômicas específicas. Este acúmulo anormal compromete tanto a arquitetura quanto a função de células e dos órgãos e resulta em um amplo espectro de manifestações clínicas multissistêmicas e progressivas. De acordo com estudos internacionais, a frequência das MPS em conjunto varia de 1,9 a 4,5 por 100.000 nascimentos (Vieira *et al.*, 2008).

Os primeiros relatos de MPS datam de 1917 quando Charles Hunter descreveu dois irmãos de 8 e 10 anos de idade com múltiplas alterações esqueléticas e somáticas e que supostamente sofriam de algum distúrbio endócrino. Ambas crianças apresentavam baixa estatura, cabeças grandes e de formato curioso, cabelos finos e duros, nariz em sela com narinas antevertidas, língua grande, pescoço curto, joelhos fletidos e mãos em garra. Os dois haviam sido submetidos à amigdalectomia e adenoidectomia e tinham deficiência auditiva. Também comum a ambos era o fato de suas condições clínicas terem se deteriorado com o passar dos anos (Hunter, 1917). Esta primeira observação foi mais tarde corroborada pela descoberta de outros pacientes apresentando as mesmas alterações físicas, sendo então as características da síndrome de Hunter estabelecidas: fácies grosseiro, baixa estatura, alterações esqueléticas, rigidez articular e déficit intelectual. Uma forma da mesma condição, com preservação da inteligência e sobrevida até a idade adulta, também foi reconhecida. Embora apresentasse claro envolvimento somático, este subtipo da doença se manifestava mais tardiamente e apresentava progressão mais lenta (Neufeld e Muenzer, 2001).

Dois anos depois, em 1919, Hurler descreveu dois casos que pareciam se tratar de outra nova doença. Os pacientes apresentavam opacidade de córnea, baixa estatura desproporcional, semelhante a do hipotireoidismo, associado a sinais comuns a esta condição como nariz em sela, deficiência intelectual, xerodermia, hérnias umbilical e inguinal, coxas e pés valgus. Além disso, os pacientes apresentavam contratura dos dedos, limitação de movimentos em

outras articulações (ombros, cotovelos e joelhos) e deficiência auditiva. Esta nova condição foi chamada de síndrome de Hurler. Mais uma vez o relato inicial foi seguido pela descrição de outros pacientes com características semelhantes e que mais tarde mostraram se tratar do mesmo defeito metabólico (Engel, 1939). As principais características desta doença incluem fâcies grosseiro, baixa estatura, opacidade de córnea, rigidez articular, hérnia umbilical, disostose múltipla\* e hepatoesplenomegalia. Dependendo do caso, pode ou não haver deficiência intelectual. De modo geral, os casos mais graves apresentam início precoce e cursam com algum grau de deficiência intelectual enquanto os mais leves surgem mais tardiamente e não apresentam comprometimento neurológico (Neufeld e Muenzer, 2001).

Estes foram os primeiros relatos descrevendo a apresentação clínica das MPS que considerava todo o fenótipo como uma doença, mesmo não se conhecendo sua etiologia na época. Entretanto, a grave alteração esquelética, em particular, responsável pelas deformidades físicas facilmente identificáveis e o dismorfismo facial, não passaram despercebidos até o início do século 20. Na verdade, acredita-se que algumas representações de *gargolismo* se inspiraram na observação de pacientes com MPS pelos artistas que primeiro criaram tais esculturas, já que algumas delas mimetizam perfeitamente as principais características deste grupo de doenças. Quando relatadas pela primeira vez, estas síndromes foram designadas *gargolismo* (Cockayne, 1936; Henderson, 1940; Norman *et al.*, 1959; Koskenoja e Suvanto, 1959; Scheie *et al.*, 1962).

Quando as síndromes de Hunter e Hurler foram descritas, nada se sabia sobre sua fisiopatologia. Além de algumas semelhanças fenotípicas óbvias, não se imaginava que estas duas condições resultavam de defeitos na mesma via metabólica e que mais tarde seriam reconhecidas como entidades clínicas pertencentes ao mesmo grupo de doenças: as mucopolissacaridoses (MPS). O termo MPS só foi sugerido em 1952, após a identificação de grandes quantidades de GAG (antes chamados de mucopolissacarídeos) em amostras

---

\*O termo disostose múltipla é usado para descrever as alterações radiológicas características das MPS e reflete formação e maturação defeituosas do osso endocondral e membranoso em todo o corpo. As alterações são: sela túrcica em J; espessamento da calvária, costelas em formato de remo, esterno curto, clavículas curtas e alargadas, platispondilia, vértebras com projeções inferiores, displasia de odontóide, asas do íliaco arredondadas, afunilamento inferior do íliaco, displasia de quadril, encurtamento dos metacarpos, hipoplasia dos ossos do carpo com encontro das epífises, ossos longos com epífises hipoplásicas e diáfises curtas e espessadas (Clarke e Hollak, 2015)

de pacientes com síndrome de Hurler (Brante, 1952). O reconhecimento de que pacientes diferentes com sintomas diferentes também excretavam quantidades diferentes de GAG na urina, confirmou a existência de outras síndromes além da de Hurler e Hunter (Harris, 1961; Maroteaux *et al.*, 1963; Sanfilippo *et al.*, 1963).

Em 1964 surgiu o conceito de que as MPS eram causadas por defeitos enzimáticos que levavam ao acúmulo de GAG não degradados ao invés de sua super produção (van Hoof e Hers, 1964; Fratantoni *et al.*, 1969). A partir de então, os pesquisadores focaram sua atenção na identificação das deficiências enzimáticas subjacentes a cada tipo de MPS. Atualmente, o grupo das MPS compreende 7 doenças diferentes, cada uma causada pela deficiência de determinada enzima que cataliza uma etapa específica no processo de degradação dos GAG. Como um todo, as MPS são caracterizadas pelo acúmulo intralisossômico e aumento da excreção urinária de GAG parcialmente degradados, que acabam levando à disfunção de células, órgãos e tecidos (Neufeld e Muenzer, 2001).

Até alguns anos atrás, a única opção terapêutica disponível para as MPS era o tratamento sintomático para as diferentes manifestações da doença em múltiplos órgãos e sistemas. Esta abordagem era paliativa e tinha impacto mínimo sobre a progressão da doença.

A noção de que uma enzima defeituosa poderia ser substituída por outra semelhante normal é quase tão antiga quanto o próprio lisossomo, tendo sido sugerida pela primeira vez por Christian de Duve que em 1964 observou que qualquer substância internalizada via endocitose acabaria indo parar dentro dos lisossomos (de Duve, 1964). Evidências reais deste processo vieram alguns anos depois com os estudos de Fratantoni demonstrando a correção cruzada de enzimas lisossômicas em co-culturas de fibroblastos de pacientes com MPS I e MPS II (Fratantoni *et al.*, 1968).

Com base neste conceito, Hobbs realizou em 1980 o primeiro transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) em um paciente com MPS I (Hobbs *et al.*, 1981), como objetivo de fornecer a enzima deficiente. Desde então, mais de 600 TCTH já foram realizados, com melhora dos desfechos neurológicos e da sobrevida dos pacientes em comparação aos controles históricos (Boelens e van Hasselt, 2016). Atualmente, é consenso mundialmente que o TCTH é o tratamento de primeira linha para pacientes com MPS I do tipo Hurler com menos

de 2,5 anos e sem comprometimento neurológico grave (de Ru *et al.*, 2011). Resultados menos convincentes foram obtidos nos outros tipos de MPS (Shapiro *et al.*, 1995; McKinnes *et al.*, 1996; Peters e Steward, 2003; Guffon *et al.*, 2009; Prasad e Kurtzberg, 2010).

Outras modalidades terapêuticas como a terapia de reposição enzimática (TRE) por via intravenosa (IV), a terapia de redução de substrato (TRS) e o uso de chaperonas também foram propostas para o tratamento das MPS; entretanto, nenhuma delas é capaz de prevenir ou frear a deterioração neurológica que ocorre em alguns tipos de MPS, em especial na MPS tipo II.

Assim, apesar de todos os avanços alcançados ao longo das últimas décadas, muito desafios ainda permanecem em relação ao tratamento dos pacientes com MPS, principalmente daqueles que apresentam comprometimento neurológico.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 As Mucopolissacaridoses

As MPS constituem um grupo de doenças de depósito lisossômico (DDL) causadas pela deficiência da atividade de determinadas enzimas lisossômicas que catalisam uma etapa específica no processo de degradação dos GAG (Neufeld e Muenzer, 2001).

Os GAG são polissacarídeos não ramificados formados por unidades repetidas de dissacarídeos. Quatro grupos principais de GAG podem ser reconhecidos de acordo com os açúcares que o compõem, o tipo de ligação entre eles, o número e a localização de grupamentos sulfato: (1) ácido hialurônico, (2) sulfato de condroitina (CS) e sulfato de dermatan (DS), (3) sulfato de heparan (HS) e (4) sulfato de queratan (KS) (Walker *et al.*, 1994). Os GAG se ligam a proteínas centrais para formar os proteoglicanos, responsáveis por uma grande variedade de funções no organismo (Kakkis, 2002).

O acúmulo progressivo de GAG dentro das células leva ao comprometimento de múltiplos órgãos e à excreção excessiva de GAG urinários. O padrão de envolvimento sistêmico depende do defeito enzimático específico. Atualmente, o grupo das MPS compreende 7 doenças diferentes causadas pela deficiência da atividade de 11 enzimas que catalisam uma etapa específica no processo de degradação dos GAG - Tabela 1. Pacientes com diferentes tipos de MPS excretam quantidades diferentes de HS, DS, KS ou CS na urina (Pastores *et al.*, 2007; Muenzer *et al.*, 2009a; Giugliani *et al.*, 2010).

O fenótipo clínico do paciente com MPS depende da distribuição e do *turnover* do GAG específico que está comprometido. Em termos gerais, as MPS se caracterizam por um curso crônico e progressivo, com diferentes velocidades de progressão dependendo da gravidade de cada uma. Os sintomas típicos incluem organomegalia, disostose múltipla e fácies característico. A audição, visão e função cardiovascular também podem ser afetadas, assim como a mobilidade articular (Neufeld e Muenzer, 2001).

Tabela 1 . Classificação dos diferentes tipos de mucopolissacaridose

<b>Tipo MPS</b>	<b>Epônimo</b>	<b>Enzima Deficiente</b>	<b>Gene</b>		<b>Herança</b>	<b>GAG</b>
MPS I	Hurler & Scheie	-L-iduronidase	IDUA	4p16.3	AR	DS e HS
MPS II	Hunter	Iduronato-2-sulfatase	I2S	Xq28	LX	DS e HS
MPS IIIA	Sanfilippo A	Heparan <i>N</i> -sulfatase (sulfamidase)	SGSH	17q25.3	AR	HS
MPS IIIB	Sanfilippo B	<i>N</i> -acetil- -glicosaminidase	NAGLU	17q21.2	AR	HS
MPS IIIC	Sanfilippo C	Acetil-CoA: -glicosaminida <i>N</i> -acetiltransferase	HGSNAT	8p11.2- p11.1	AR	HS
MPS IIID	Sanfilippo D	<i>N</i> -acetilglicosamina6-sulfatase	GNS	12q14.3	AR	HS
MPS IVA	Morquio A	Galactosamina-6-sulfatase	GALNS	16q24.3	AR	QS e SC
MPS IVB	Morquio B	-galactosidase	GLB1	3p22.3	AR	QS
MPS VI	Maroteaux-Lamy	<i>N</i> -acetilgalactosamina 4-sulfatase (arilsulfatase B)	ARSB	5q14.1	AR	DS
MPS VII	Sly	-Glicuronidase	GUSB	7q11.21	AR	DS, HS e SC
MPS IX	Natowicz	Hialuronidase	HYAL1	3p21.31	AR	H

MPS: mucopolissacaridose; AR: autossômico recessivo; LX: ligado ao X; GAG: glicosaminoglicano; DS: dermatan sulfato; HS: heparan sulfato; QS: queratan sulfato; SC: sulfato de condroitina; H: ácido hialurônico

Acredita-se que algumas das manifestações clínicas das MPS sejam resultado direto do acúmulo de GAG nos tecidos, tais como as características faciais, espessamento da pele, opacificação da córnea e visceromegalias. Outras manifestações como deficiência intelectual, baixa estatura e displasia esquelética parecem ser resultantes do comprometimento da função celular. Já as contraturas articulares e as hérnias indicam a interferência dos GAG acumulados em outros substratos metabólicos como o colágeno e a fibronectina (Walker *et al.*, 1994).

A maioria dos tipos de MPS é subdividida em dois ou três fenótipos clínicos. Esta variabilidade parece estar relacionada às diferentes combinações alélicas e seus efeitos na proteína resultante. Com exceção da MPS tipo II, que tem herança ligada ao cromossomo X, todas as outras MPS são herdadas de modo autossômico recessivo. Não obstante, todas as MPS, incluindo a tipo II, são doenças recessivas, não apresentando manifestações clínicas nos seus portadores (Coutinho *et al.*, 2012).

A análise da excreção urinária de GAG foi o primeiro método diagnóstico disponível para MPS e continua atualmente sendo utilizado como teste diagnóstico preliminar. Os GAG urinários estão quantitativamente elevados em praticamente todos os casos de MPS, embora a ocorrência de níveis normais não permita descartar o diagnóstico em pacientes com quadro sugestivo (Giugliani *et al.*, 2010). A cromatografia e a eletroforese são métodos laboratoriais que podem ser utilizadas para identificar o tipo de GAG que se encontra em excesso, auxiliando na orientação de quais enzimas deverão ser inicialmente testadas (Leistner e Giugliani, 1998). O diagnóstico definitivo deve ser realizado através da dosagem da atividade enzimática específica para cada tipo de MPS. Uma vez que as enzimas lisossômicas estão presentes em todas as células do organismo, exceto nos eritrócitos maduros, a deficiência da atividade enzimática pode ser determinada em vários tipos celulares e fluidos corporais. A identificação do genótipo pode ser importante para auxiliar na predição do fenótipo em alguns casos, auxiliando na decisão terapêutica, no aconselhamento genético da família e no diagnóstico pré-natal (Giugliani *et al.*, 2010). No entanto, as mutações encontradas nas MPS têm ampla heterogeneidade e muitas vezes são mutações privativas em uma única família, limitando a abrangência deste recurso complementar (Neufeld e Muenzer, 2001).

As MPS apresentam uma história natural progressiva, freqüentemente grave, causando perda significativa na qualidade de vida e encurtando de forma considerável a expectativa de vida dos pacientes. O tratamento multidisciplinar do paciente é essencial para o manejo adequado da doença e de suas várias complicações sistêmicas (Pastores *et al.*, 2007; Muenzer *et al.*, 2009a).

## **2.2 O Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas**

O transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) é um procedimento no qual todo o sistema hematopoiético e imune é substituído por células de um doador. Ele pode ser classificado de acordo com a origem da célula-tronco hematopoiética (CTH), se proveniente de medula óssea; sangue periférico ou sangue de cordão umbilical; ou de acordo com o tipo de doador; autólogo, quando as CTH são obtidas do próprio paciente, ou alogênico, quando elas são obtidas de um doador (Barriga *et al.*, 2012).

Para que ocorra a enxertia bem sucedida de CTH, o paciente precisa receber algum tipo de terapia imuno-ablativa ou regime de condicionamento antes do transplante. Os regimes de condicionamento são ditos mieloablativos quando altas doses tanto de radiação quanto de quimioterapia são usadas e de intensidade reduzida quando são usadas doses mais baixas. A intensidade do regime de condicionamento depende do diagnóstico de base, da idade do paciente e de suas co-morbidades (Kassim *et al.*, 2005).

As CTH da medula óssea foram a primeira fonte de células utilizada em transplantes após estudos de Donnall Thomas na década de 60. Os estudos iniciais demonstraram o efeito de altas doses de radioterapia e quimioterapia sobre a medula óssea e a capacidade de regeneração da função hematopoiética após a re-infusão de células previamente armazenadas ou doadas (Barriga *et al.*, 2012).

Posteriormente CTH obtidas de sangue periférico de doador sadio após mobilização com fator estimulador de granulócito e coletada via leucoaférese também foram utilizadas. Desta maneira evitava-se o procedimento cirúrgico doloroso de se obter medula óssea e conseguia-se uma enxertia mais rápida de granulócitos e plaquetas, com melhor reconstituição imune (Barriga, *et al.*, 2012).

O reconhecimento do sangue de cordão umbilical como fonte de CTH capaz de repovoar a medula foi relatado pela primeira vez em 1988, em um paciente com anemia de Fanconi (Gluckman, 2009). Os resultados bem sucedidos em crianças estimularam seu uso em pacientes adultos. A principal limitação ao seu uso é a baixa densidade celular, o que leva a lenta reconstituição hematológica e imune. Várias estratégias estão em estudo a fim de se melhorar os resultados do TCTH com sangue de cordão umbilical em adultos e crianças maiores (Barriga, *et al.*, 2012).

A criação de registros de doadores de medula óssea e de bancos de cordão umbilical aumentou em muito a disponibilidade de doadores para TCTH. Apesar deste aumento, o número de TCTH em todo o mundo difere bastante entre os países desenvolvidos e os em desenvolvimento. Em países da Europa, como a Alemanha, o número de TCTH chega a ser mais de 30 vezes maior do que em alguns países da América do Sul; o que reflete o alto nível de infra-estrutura médica e de recursos humanos necessário para a realização de TCTH (Barriga *et al.*, 2012).

### **2.3 O Tratamento das MPS**

Até alguns anos atrás, a única opção terapêutica disponível para as MPS era o tratamento sintomático para as diferentes manifestações da doença em múltiplos órgãos e sistemas. Apesar do impacto mínimo sobre a progressão da doença, o acompanhamento individualizado é importante para detectar precocemente as complicações de longo prazo relacionadas à doença e fornecer os cuidados necessários. Diretrizes e protocolos de seguimento específicos foram desenvolvidos para várias das MPS (Muenzer *et al.*, 2009a, b), assim como para complicações específicas como a doença das vias aéreas (Walker *et al.*, 2013), displasia de quadril (Langereis *et al.*, 2013) e compressão medular (Solanki *et al.*, 2013). A abordagem multidisciplinar é recomendada para todos os tipos de MPS.

#### **2.3.1 Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas**

Desde que Fratantoni e Neufeld em 1968 demonstraram a correção cruzada de enzimas lisossômicas em co-culturas de fibroblastos de pacientes com MPS I e MPS II e Hobbs realizou em 1980 o primeiro TCTH em um paciente com MPS I (Hobbs *et al.*, 1981), o TCTH foi proposto como maneira de fornecer a enzima deficiente a pacientes com doença metabólica (Krivit *et al.*, 1989).

O transplante fornece células metabolicamente competentes, que podem corrigir as deficiências enzimáticas no receptor. Vários mecanismos podem contribuir para um efeito benéfico nos pacientes com DDL. Primeiro, a substituição de células deficientes em determinada enzima por células normais seria importante, principalmente para doenças nas quais o sistema mononuclear fagocítico é afetado. Após o transplante, os macrófagos enzimaticamente competentes do doador substituiriam gradualmente os macrófagos do receptor, cheios de material não degradado. Em segundo lugar, enzima seria transferida a partir de células normais do doador para células deficientes através do contato direto célula-célula. Este processo de transferência foi descrito após o co-cultivo de leucócitos e macrófagos enzimaticamente competentes com fibroblastos deficientes. O transplante também seria eficaz por promover a liberação de enzima no plasma . por exemplo, pela desintegração de leucócitos do doador. Em modelos animais e estudos em humanos foi relatado o aumento de enzima circulante no plasma após transplante. A enzima circulante poderia ser captada pelas células enzimaticamente deficientes. O último importante mecanismo seria um gradiente de concentração de produto não degradado entre os tecidos e o compartimento plasmático, que poderia resultar da quebra de substrato circulante por enzimas lisossômicas em leucócitos e macrófagos teciduais do doador. Tal gradiente poderia levar a liberação do produto depositado (Hoogerbrugge *et al.*, 1995).

Estudos em animais mostraram que a enxertia bem sucedida resulta na correção bioquímica do defeito enzimático em vários tecidos, como por exemplo, nas células sanguíneas e no tecido hepático. Em relatos de TCTH em pacientes com doença metabólica, esta correção se refletiu na redução da concentração do produto depositado em amostras de sangue e urina. Apesar da melhora em parâmetros bioquímicos freqüentemente relatada, os benefícios clínicos pós-transplante não são tão claros. O seguimento clínico dos pacientes é complicado

pela heterogeneidade de apresentação e gravidade entre os pacientes e influenciado pelo estágio da doença no momento do transplante (Hoogerbrugge *et al.*, 1995).

Atualmente o TCTH tem sido usado no tratamento de várias DDL mostrando diferentes graus de sucesso. Desde o primeiro transplante em 1980, mais de 2.000 TCTH já foram realizados (Boelens e Hasselt, 2016). O TCTH tem sido mais extensamente estudado para o tratamento da forma grave da MPS tipo I, ou síndrome de Hurler. Os resultados mostram que desfechos neurológicos melhoraram e a sobrevida destes pacientes aumentou consideravelmente em comparação aos controles históricos (Aldenhoven *et al.*, 2008). A eficácia do TCTH na MPS I depende de alguns fatores como o momento da intervenção, a fonte da célula doadora e o grau de enxertia. É consenso mundialmente que o TCTH é o tratamento de primeira linha para os pacientes com MPS I do tipo Hurler antes dos 2,5 anos e sem comprometimento neurológico grave (de Ru *et al.*, 2011).

A indicação de TCTH é menos clara nos fenótipos mais brandos da MPS I, síndromes de Hurler/Scheie e Scheie, devido ao curso mais lento da doença nessas formas. Na MPS I do tipo Hurler/Scheie, a deterioração do sistema nervoso central pode ser insidiosa e na MPS I tipo Scheie, a expectativa de vida pode chegar até a quarta ou quinta década de vida, sem comprometimento neurológico (Neufeld e Muenzer, 2001).

Resultados menos convincentes foram obtidos nos outros tipos de MPS. Na MPS tipo II, ou síndrome de Hunter, o TCTH se mostrou capaz de melhorar as manifestações viscerais, mas as respostas neurológicas foram inconsistentes. Alguns relatos de casos sugerem efeitos benéficos com o TCTH (Bergstrom *et al.*, 1994; Vellodi *et al.*, 1999; Tanaka *et al.*, 2012), enquanto outros mostram resultados desapontadores (Shapiro *et al.*, 1995; McKinnes *et al.*, 1996; Guffon *et al.*, 2009).

Os pacientes com MPS III apresentam atraso no desenvolvimento e deterioração mental progressiva com poucas manifestações somáticas. O TCTH realizado mesmo precocemente nestes pacientes não pareceu melhorar significativamente a neurodegeneração. Nos pacientes com MPS IV A, a principal manifestação é a disostose múltipla que leva a deformidades esqueléticas importantes que, até o momento, não parecem melhorar com o

TCTH. Os benefícios relatados com TCTH na MPS VI incluem a resolução da hepatoesplenomegalia, estabilização da função cardiopulmonar, melhora na acuidade visual e na mobilidade articular. Entretanto, a recomendação atual é que ele só deve ser considerado em caso de falha ou intolerância à TRE. A MPS VII pode melhorar com o TCTH se a condição do paciente for boa no momento do transplante (Peters e Steward, 2003; Prasad e Kurtzberg, 2010).

Resultados promissores foram obtidos com o TCTH em outras doenças lisossômicas como leucodistrofia metacromática, adrenoleucodistrofia leucodistrofia de célula globóide (doença de Krabbe), fucosidose, -manosidose, doença de Gaucher, doença de Niemann-Pick tipo B e osteopetrose infantil maligna. Já na doença de Tay-Sachs, doença de Sandhoff, gangliosidose GM1, doença de Zellweger, doença de Fabry, doença de Canavan, xantomatose cerebrotendínea e cistinose, os pré-requisitos para o sucesso do TCTH permanecem desconhecidos mesmo com a evolução do conhecimento acerca da patogênese da doença (Peters e Steward, 2003; Boelens *et al.*, 2010).

A avaliação do valor do TCTH a longo-prazo no grupo de DDL tem sido difícil por uma série de fatores: (a) a maioria dessas doenças tem um amplo espectro de fenótipos clínicos, difíceis de serem previstos no momento do diagnóstico. (b) Os benefícios variam entre os diferentes órgãos. Órgãos do sistema reticulo-endotelial como o fígado e o baço com frequência reduzem de tamanho rapidamente, conforme os macrófagos repletos de material não degradado captam a enzima disponível pós-transplante. Entretanto, os benefícios no sistema nervoso central (SNC) aparecem mais lentamente. No cérebro, as células da microglia são substituídas por células do doador, fazendo com que enzima seja fornecida aos neurônios. Este processo pode ser lento e incompleto, limitando o sucesso nas doenças neurológicas rapidamente progressivas e explicando o intervalo de 6-12 meses que geralmente ocorre entre a realização do TCTH e a estabilização do quadro neurológico. Infelizmente, o impacto do TCTH sobre a doença óssea é pequeno, presumivelmente devido à baixa penetração da enzima nos condrócitos e à falha na correção ou substituição dos osteócitos. (c) Vários aspectos do transplante influenciam no seu desfecho, como por exemplo, a quantidade de enzima produzida pelas células do doador, o grau e a persistência do quimerismo, complicações pós-transplante e, ocasionalmente, a formação de anticorpos

contra a nova proteína, a qual o paciente não apresenta tolerância (Peters e Steward, 2003; Boelens *et al.*, 2010; Hollak e Wijburg 2014).

### 2.3.2 Terapia de Reposição Enzimática

No início dos anos 1970, os primeiros estudos clínicos sobre TRE em pacientes com DDL foram realizados. Enzima humana altamente purificada quando injetada no plasma desaparecia rapidamente da circulação ( $t_{1/2}$ ~10-20min). Atividade enzimática exógena foi detectada em biópsias de tecidos dos receptores e evidências de catabolismo do substrato também foram encontradas nestes tecidos. Entretanto, importantes obstáculos surgiram após os primeiros experimentos: (1) incapacidade de produzir e purificar quantidades suficientes de enzimas lisossômicas; (2) incapacidade de direcionar enzimas administradas exogenamente para tecidos específicos e sítios celulares das doenças, principalmente para o SNC; e (3) a falta de modelos animais com DDL humanas para avaliar os efeitos farmacocinéticos e farmacodinâmicos da administração da enzima (Desnick, 2004).

Nos anos 1980, muitos pesquisadores passaram a focar suas pesquisas em estudos mais básicos sobre a biologia dos lisossomos. Poucos pesquisadores continuaram trabalhando com TRE. Brady e colaboradores estavam determinados a desenvolver uma TRE para doença de Gaucher tipo 1, causada pela deficiência da beta-glicosidase ácida e que compromete primariamente o sistema macrófago/monócito. Brady pesquisou possibilidades para se tentar reverter ou frear a progressão da doença através da TRE com beta-glicosidase ácida purificada de placenta humana. Apesar da maioria das glicoproteínas serem direcionadas para o lisossomo via receptor de manose-6-fosfato, a beta-glicosidase ácida não era. Ele conseguiu direcionar a beta-glicosidase ácida para receptores específicos de manose na superfície dos macrófagos através da modificação da cadeia oligossacarídica N-terminal da enzima pela remoção seqüencial dos resíduos de ácido siálico, beta-galactosil e N-acetilglicosaminil, expondo desta maneira os resíduos de manose. Esta forma %manose-terminal+ da enzima era reconhecida de maneira eficiente pelos

receptores de manose da membrana dos macrófagos e direcionada para os lisossomos para o catabolismo do substrato (Desnick, 2004; Brady *et al.*, 1974).

A demonstração, no início dos anos 1990, de que a TRE para a doença de Gaucher tipo 1 era segura e bem-tolerada, e que a enzima conseguia reverter anos de acúmulo de substrato, forneceu a primeira prova de conceito da TRE em DDL sem envolvimento neurológico (Desnick, 2004).

O sucesso da TRE para a doença de Gaucher tipo 1 estimulou outros pesquisadores a desenvolver e avaliar a reposição enzimática para outras DDL. As pesquisas foram facilitadas pela clonagem de DNA e de genes que codificam a maioria das enzimas lisossômicas humanas, pelo desenvolvimento de sistemas de expressão eucarióticos para produção de grandes quantidades de enzima recombinante e pelo uso de técnicas de direcionamento gênico capazes de gerar modelos animais *knockout* para estudos pré-clínicos. Assim, em meados dos anos 1990, os pesquisadores dispunham de grande quantidade de enzima recombinante e de modelos animais específicos para desenvolver a TRE para outras doenças (Desnick, 2004).

A TRE tornou-se comercialmente disponível para o tratamento da MPS I em 2003, da MPS VI em 2005, da MPS II em 2006 e da MPS IVA em 2014 (FDA; EMA; ANVISA). Utilizadas uma vez por semana, as enzimas recombinantes são capazes de reduzir o acúmulo lisossômico de GAG e amenizar muitos dos sintomas da doença. Entretanto, a TRE endovenosa não oferece benefício direto para o SNC uma vez que a enzima não atravessa a barreira hemato-encefálica (BHE) (Kakkis *et al.*, 2004; Dickson *et al.*, 2007; Tolar e Orchard, 2008; Hemsley *et al.*, 2009; Muenzer *et al.*, 2009a; Dickson *et al.*, 2010).

O cérebro é protegido pela BHE, pela barreira hemato-liquórica e pelo epitélio aracnóide avascular. Juntas, essas barreiras fornecem regulação física, de transporte e metabólica, restringindo a entrada de macromoléculas e solutos polares no cérebro e medula espinhal. A maioria dos agentes farmacológicos não é capaz de penetrar no cérebro em quantidade suficiente para que possa exercer benefício terapêutico; somente moléculas lipofílicas pequenas (até 500Da) são capazes de atravessar a BHE. Assim, um dos maiores desafios no tratamento de doenças que afetam o SNC é a falta de métodos convenientes e eficazes capazes de permitir a chegada de agentes terapêuticos ao cérebro. Vários métodos não-invasivos utilizando mecanismos de transporte molecular

endógeno têm sido explorados (proteínas de fusão que se ligariam ao receptor de insulina ou de transferrina), assim como tecnologia de encapsulamento (lipossomos) e de nanopartículas, para atravessar a BHE. Apesar de promissoras do ponto de vista mecânico, poucas destas estratégias progrediram para além da avaliação pré-clínica, fazendo da administração direta no líquido ou no cérebro a única maneira viável de fornecer agentes terapêuticos para o cérebro e medula espinhal (Calias *et al.*, 2012; Muenzer *et al.*, 2016).

As duas principais vias de administração medicamentosa no SNC são a intratecal (IT) e a intracerebroventricular (ICV). A IT é uma via bem estabelecida para o tratamento de dor crônica e espasticidade. A administração ICV também tem sido usada, principalmente, no tratamento da doença de Parkinson, na administração de opióides para controle de dor e na quimioterapia em crianças. Inicialmente havia dúvida sobre a eficácia da via IT, já que drogas administradas por esta via poderiam ser absorvidas pela corrente sanguínea ou degradadas localmente antes que alcançassem o cérebro. Estudos de biodisponibilidade mostraram que mesmo grandes moléculas são transportadas do líquido para o cérebro quando administradas por via IT e têm ampla distribuição pelo parênquima cerebral (Calias *et al.*, 2012). Assim, ambas vias de administração são eficazes para a entrada de medicação no SNC, sendo que dispositivos de liberação IT teriam duas vantagens em relação às injeções ICV: (1) eles são percebidos como menos invasivos e (2) eles têm sido usados com sucesso há anos em tratamentos para dor e espasticidade. Além disso, o contato da enzima administrada através do líquido com as meninges conferiria à via IT uma terceira vantagem sobre a administração ICV, que seria o tratamento de complicações medulares, como a compressão medular; componente importante da complexa doença do SNC (Kakkis *et al.*, 2004; Muenzer *et al.*, 2016).

Estudos clínicos com o uso da TRE por via IT estão atualmente em andamento para 4 diferentes tipos de MPS com envolvimento neurológico, MPS I, MPSII, MPSIIIA e MPSIIIB (Giugliani *et al.*, 2016; Jones *et al.*, 2016).

O caso clínico de um paciente com a forma atenuada da MPS I tratado com -L-iduronidase recombinante por via IT mostrou melhora ou manutenção nas funções de memória, atenção e aprendizagem. Alterações encontradas na microestrutura cerebral sugerem que o tratamento IT pode ter impacto

significativo sobre a função neurocognitiva dos pacientes que apresentaram declínio neurológico com o tratamento por via intravenosa (Nestrasil *et al.*, 2017).

Um estudo de fase I/II em 12 pacientes com a forma neuronopática da MPS II tratados por 6 meses com I2S por via IT mostrou redução >70% na concentração de GAG no líquido após o 1º mês de tratamento. Este resultado mostra a I2S por via IT como potencial terapia para o comprometimento cognitivo nos pacientes com MPS II (Muenzer *et al.*, 2016).

### 2.3.3 Terapia de Redução de Substrato

A terapia de redução de substrato (TRS) tem o objetivo de inibir a síntese de GAG através do uso de pequenas moléculas, compensando assim a atividade enzimática comprometida. Diferentemente da TRE, é esperado que as pequenas moléculas utilizadas na TRS atravessem a BHE com a administração por via oral, melhorando os sintomas neurológicos. Isto torna a TRS particularmente interessante para as MPS tipos II e III (Giugliani *et al.*, 2016).

A genisteína, uma isoflavona da soja, é capaz de inibir a síntese de GAG *in vitro* e em modelos animais de MPS tipos II e IIIB. Acredita-se que ela atue através da inibição da atividade de tirosina quinase do receptor do fator de crescimento epidérmico, que controla a síntese de GAG. Foi relatada melhora em alguns casos, mas um estudo clínico controlado com placebo em pacientes com MPS II não mostrou benefícios clínicos significativos. Este resultado pode dever-se às baixas doses utilizadas ou ao período relativamente curto de duração do estudo. Estudos clínicos adicionais são necessários para que se possa estabelecer o valor da genisteína no tratamento das MPS (Hollak e Wijburg, 2014).

A rodamina B ([9-(2-carboxifenil)-6-dietilamino-3-xantenilideno]-cloreto de dietilamônio) também está entre as moléculas mais estudadas como TRS para as MPS. Estudos *in vitro* demonstraram redução na quantidade de GAG depositados nos lisossomos de fibroblastos em MPS VI e IIIA. Em modelo de camundongo de MPS IIIA uma dose de 1mg/Kg foi capaz de reduzir o tamanho do fígado e os níveis de GAG urinários e teciduais (fígado e cérebro), levando a melhoras na função neurológica. Além disso, os camundongos não

apresentaram efeitos adversos com a administração da rodamina B por longo período. A eficácia e segurança em humanos ainda não foi avaliada. Além disso, seu mecanismo de ação é desconhecido. Como ele não é específico, seu efeito direto sobre a biossíntese dos GAG não pode ser distinguido de possíveis efeitos sobre outras vias que afetem o depósito lisossômico (Giugliani *et al.*, 2016).

#### 2.3.4 Chaperonas

Outra abordagem para o tratamento de doenças genéticas que resultem de defeitos conformacionais da proteína ou do tráfego deficiente de enzimas para os lisossomos é o uso de chaperonas farmacológicas de baixo peso molecular. Estas moléculas se ligam e estabilizam enzimas mutantes, melhorando ou aumentando sua função e permitindo seu tráfego celular adequado para os lisossomos, onde irão desempenhar sua função na degradação de GAG (Giugliani *et al.*, 2016).

As células têm um sistema de controle de qualidade que elimina proteínas malformadas ou instáveis. Estima-se que até 30% das proteínas normais não alcancem seu estado funcional e sejam rapidamente degradadas após sua síntese pelo sistema de controle de qualidade celular. Em doenças genéticas, mutações sem sentido (*nonsense*) e *frameshift* codificam seqüências polipeptídicas muito alteradas e não funcionantes que são rapidamente eliminadas no retículo endoplasmático pelo sistema de controle de qualidade. Entretanto, certas mutações de sentido trocado (*missense*) e algumas pequenas deleções podem não comprometer (ou comprometer minimamente) os domínios funcionais da proteína mutante (o sítio ativo, o sítio de ligação do receptor, etc), mas podem causar malformação da cadeia polipeptídica, instabilidade e/ou alteração do tráfego para organelas subcelulares ou membrana plasmática. Mutações que causam malformação da proteína levam ao acúmulo de produtos intermediários dentro da célula, o que retarda o processo normal de formação de proteínas. Chaperonas farmacológicas poderiam se difundir para dentro da célula e se ligar a estes intermediários, resgatando sua conformação e impedindo seu acúmulo (Desnick, 2004).

Várias pequenas moléculas estão sendo avaliadas quanto a suas capacidades de aumentar a atividade de enzimas lisossômicas tanto como tratamento único quanto em combinação com a TRE (Hollak e Wijburg, 2014)

### 2.3.5 Terapia Gênica

A mais recente estratégia de tratamento para as MPS é a terapia gênica. Apesar de diferentes tipos de vetores poderem ser utilizados, incluindo vetores não virais, os vetores virais foram os que possibilitaram os maiores níveis de enzimas produzidas em longo prazo. Os vetores podem ser administrados por diferentes vias incluindo a intravenosa, a intramuscular e a intracraniana. A terapia gênica se baseia no mesmo princípio do TCTH, em que células saudáveis são capazes de secretar enzima que é captada pelas células adjacentes fazendo a correção cruzada com as células deficientes. Diferentes tipos de vetores têm sido estudados *in vitro* e em modelos animais. Dentre eles, os vetores mais utilizados nos protocolos de tratamento das MPS são os vírus adeno-associados (AAV), os retrovírus (RV) e os lentivirus (LV). Os AAV são não-integrativos e expressam o transgene em longo prazo. Seus diferentes sorotipos permitem uma transdução eficiente de vários tipos celulares. RV e LV são capazes de inserir seu material genético no genoma hospedeiro, mas os RV só são capazes de transduzir células em divisão. Apesar destes vetores não serem expressos no cérebro, níveis muito altos de enzima são encontrados no plasma e, de alguma maneira, uma fração da enzima produzida consegue alcançar o cérebro. Entretanto, como os RV não são capazes de transduzir células quiescentes, somente os LV têm sido usados para corrigir os neurônios e melhorar a doença cerebral em modelos animais de MPS IIIA e IIIB (Giugliani *et al.*, 2016).

Estudos envolvendo vetores não-virais são menos comuns, mas diferentes técnicas têm sido usadas. O uso de elementos transponíveis para integrar DNA em células hospedeiras (transposons) mostrou benefícios em camundongos com MPS I. Além disso, novas técnicas como vetores em minicírculos (vetores de DNA capazes de resistir ao silenciamento epigenético) foram capazes de produzir níveis altos e sustentados de enzima em camundongos com MPS I. Técnicas que protegem células modificadas com alginato também mostraram

correção parcial nos mesmos modelos animais. Por último, o uso de sistemas de edição do genoma como o CRISPR-CAS9, ainda precisam ser testados, mas certamente irão transformar a terapia gênica não viral para MPS em uma abordagem promissora (Giugliani *et al.*, 2016).

Um ponto importante a ser considerado na terapia gênica é o desenvolvimento de resposta imune pelo hospedeiro tanto contra a enzima quanto contra o vetor. Ambos cenários foram descritos em estudos pré-clínicos de MPS. Linfócitos T citotóxicos foram detectados após terapia gênica em animais adultos, enquanto o tratamento neonatal parece reduzir a incidência de tais eventos adversos. Anticorpos foram detectados após terapia gênica tanto viral quanto não-viral. Agentes imunossupressores e imunomoduladores podem ser usados para reduzir ou prevenir tais efeitos, o que sugere que a terapia gênica possa ser eficaz em pacientes mais velhos em uso de imunossupressão. Apesar de nenhum estudo clínico com terapia gênica em humanos ter sido publicado até o momento, pelo menos duas abordagens parecem ser promissoras, o uso de AAV e de LV (Giugliani *et al.*, 2016).

A disponibilidade de diferentes formas de tratamento para as DDLs não só estimulou o interesse nos efeitos das terapias como também levou a novas iniciativas de se estudar o curso e a fisiopatologia destas doenças. Para muitas DDLs, novas e importantes observações foram feitas, algumas das quais desafiam velhos conceitos sobre a fisiopatologia da doença. Além de estudos sobre eficácia de um tratamento existe hoje a necessidade de um melhor entendimento do ~~fenótipo~~ fenótipo alterado em consequência da modificação na história natural da doença com os tratamentos disponíveis. Apesar de todos os avanços alcançados ao longo das últimas décadas, muitos desafios ainda permanecem em relação ao manejo clínico dos pacientes com DDL (Hollak e Wijburg, 2014).

## **2.4 A Mucopolissacaridose Tipo II**

A MPS tipo II ou síndrome de Hunter é uma DDL, com herança ligada ao cromossomo X recessiva, causada pela deficiência da atividade da enzima iduronato-2-sulfatase (I2S). A I2S catalisa a remoção de um sulfato na posição 2 do ácido L-idurônico presente nos GAGDS e HS. A deficiência da atividade

desta enzima resulta no acúmulo de GAG na maioria das células e tecidos, levando a dano progressivo ao osso, cartilagem, vias aéreas, coração e cérebro. Os principais sinais e sintomas incluem baixa estatura, deformidades esqueléticas, perda auditiva, hepatoesplenomegalia, fâcias grosseiro, hérnia umbilical e inguinal, doença obstrutiva de vias aéreas, doença valvar cardíaca, infecções recorrentes de nariz, ouvido e garganta (Neufeld e Muenzer, 2001).

A síndrome de Hunter possui duas apresentações clínicas distintas. Uma forma grave, com doença do parênquima neural, chamada de forma neuronopática, e uma forma sem doença parenquimatosa neural, chamada de forma não-neuronopática. O que diferencia basicamente as duas formas é a presença ou ausência de deterioração intelectual progressiva. A forma não-neuronopática, sem comprometimento do SNC, é caracterizado basicamente por envolvimento somático; os pacientes têm inteligência normal e geralmente sobrevivem até a idade adulta. Os pacientes com a forma neuronopática apresentam envolvimento progressivo do SNC com comprometimento cognitivo precoce. Esses pacientes geralmente parecem normais ao nascimento e os sinais e sintomas da doença começam a aparecer entre os 2 e 4 anos de idade. O importante comprometimento cognitivo resulta em atraso nos marcos do desenvolvimento com início logo nos primeiros anos de vida. O desenvolvimento cognitivo atinge um platô entre 4 e 6 anos e passa a declinar depois disto. Os pacientes apresentam, com freqüência, importante distúrbio de comportamento, que inclui hiperatividade, obstinação e agressividade, com início no segundo ano de vida e que progride ao longo dos anos. O comportamento parece melhorar após algum tempo, com diminuição da hiperatividade e da agressão, embora esta mudança se deva à progressão da neurodegeneração. Em estágios mais tardios, a doença é caracterizada por um estado neurodegenerativo associado a convulsões e imobilidade. Em alguns casos, uma hidrocefalia comunicante, com aumento da pressão intracraniana, assim como as convulsões, pode contribuir para os distúrbios de comportamento. Sem tratamento, estes pacientes geralmente não sobrevivem à segunda década de vida. Cerca de 2/3 dos pacientes com MPS II apresentam a forma neurológica da doença (Martin *et al.*, 2008; Holt *et al.*, 2011; Muenzer *et al.*, 2012).

Historicamente, o tratamento da síndrome de Hunter era direcionado aos sintomas e complicações específicos da doença, sendo necessária uma equipe multidisciplinar para manejar o envolvimento multissistêmico dos pacientes.

#### **2.4.1 Terapia de Reposição Enzimática na Mucopolissacaridose Tipo II**

A I2S recombinante humana (idursulfase alfa, Elaprase®, Shire Human Genetic Therapies, Inc., Cambridge, MA, EUA) foi aprovada para o tratamento da MPS II em 2006, nos Estados Unidos, Europa, Canadá e Japão (Muenzer *et al.*, 2006). No Brasil, a idursulfase alfa recebeu aprovação pela ANVISA em 2008.

A aprovação da idursulfase alfa se baseou em dados de um estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo de fase II/III. O estudo com 53 semanas de duração avaliou a eficácia e a segurança da TRE em 96 pacientes, com idades entre 5 e 31 anos, com a forma não-neuronopática da MPS II, e demonstrou que infusões semanais na dose de 0,5mg/Kg melhoravam significativamente o desfecho primário, composto por alteração na distância percorrida em 6 minutos e na porcentagem predita de alteração na capacidade vital forçada (CVF) em comparação ao placebo. Outros desfechos incluíram redução na excreção urinária de GAG, redução no volume do fígado e baço e melhora na CVF absoluta. O perfil de segurança da idursulfase alfa foi semelhante àqueles relatados em outras TRE. Os eventos adversos relacionados à infusão relatados com maior frequência foram irritabilidade, hipertensão, urticária, conjuntivite alérgica, tosse, taquipnéia, tremor e vômito; todos facilmente manejados clinicamente. Dos pacientes que desenvolveram anticorpos IgG após o início do tratamento, cerca de 1/3 apresentou títulos negativos após 1 ano, sugerindo o desenvolvimento de tolerância imunológica. Nenhum paciente com a forma neuronopática de MPS II foi incluído neste estudo devido à incapacidade de realizar o teste de função pulmonar e da caminhada de 6 minutos. (Muenzer *et al.*, 2006).

Um estudo de extensão, aberto, com duração de 2 anos, com os 94 pacientes que terminaram o estudo de fase II/III também foi realizado a fim de

se avaliar a segurança e eficácia da idursulfase alfa em longo prazo. Os resultados demonstraram que os benefícios alcançados na primeira fase do estudo se mantiveram durante o período de extensão. Devido à necessidade de realização dos testes de função pulmonar e caminhada, mais uma vez os pacientes com a forma neuronopática da MPS II foram excluídos do estudo (Muenzer *et al.*, 2011).

Em 2012 foi aprovada na Coreia outra I2S recombinante humana, a idursulfase beta (Hunterase®, Green Cross Corp., Yongin, Korea). O primeiro estudo de fase I/II com a nova droga foi publicado em março de 2013 e tinha por objetivo avaliar a eficácia e segurança da nova enzima. Trinta e um pacientes, com idades entre 6 e 35 anos, foram incluídos neste estudo randomizado, único, controlado com droga comparativa, de 24 semanas de duração. O desfecho de eficácia primário do estudo foi o nível de excreção urinária de GAGs. Os desfechos secundários incluíram variação no teste da caminhada de 6 minutos, achados ecocardiográficos, testes de função pulmonar e mobilidade articular. Os pacientes foram randomizados para um dos três braços do estudo: droga comparativa (n=11), 0,5mg/Kg de idursulfase beta (n=10) e 1,0mg/Kg de idursulfase beta (n=10) (Sohn *et al.*, 2013).

Os pacientes em todos os três grupos de tratamento apresentaram redução na excreção urinária de GAG, que se manteve pelas 24 semanas do estudo. A excreção urinária de GAG mostrou maior redução nos pacientes que receberam idursulfase beta 0,5mg/Kg e 1,0mg/Kg quando comparados com os que receberam a droga comparativa (P=0,043 e 0,002, respectivamente). As variações no teste da caminhada de 6 minutos foram significativamente maiores nos grupos que receberam idursulfase beta 0,5mg/Kg e 1,0mg/Kg quando comparados com o grupo que recebeu a droga comparativa (P=0,003 e 0,015; respectivamente). Os efeitos sobre a função pulmonar, cardíaca, e mobilidade articular foram semelhantes aos observados com a droga comparativa. Ambas doses de idursulfase beta foram seguras e bem toleradas, sem eventos adversos graves, demonstrando um perfil de segurança adequado para o tratamento da MPS II (Sohn *et al.*, 2013).

Uma das falhas deste estudo é que todos os pacientes estavam em tratamento prévio com Elapraxe®. Apesar dos pacientes terem passado por um período de *washout* de 2 semanas antes do início das infusões de idursulfase

beta, os efeitos residuais do tratamento anterior não podem ser desconsiderados (Sohn *et al.*, 2013).

Um estudo com a I2S beta em pacientes com menos de 6 anos também está publicado, mostrando um perfil de eficácia e segurança semelhante ao exibido por pacientes com MPS II com 6 anos ou mais (Sohn *et al.*, 2015).

Desde 2012, a TRE com Hunterase® está aprovada na Coreia para o tratamento de pacientes  $\geq$  6 anos com síndrome de Hunter (Sohn *et al.*, 2015).

Apesar dos estudos clínicos randomizados e controlados serem considerados o padrão ouro para avaliar a segurança e a eficácia de novas drogas, eles medem o impacto das terapias apenas durante curto período de tempo e em uma população de pacientes limitada e rigorosamente controlada. Por isso, dados clínicos provenientes de acompanhamento de longo prazo e em grupos maiores de pacientes são extremamente necessários para complementar e ampliar os achados dos estudos clínicos. Os registros de pacientes são fontes valiosas sobre o curso das doenças e os desfechos dos tratamentos (Muenzer *et al.*, 2017).

O registro de pacientes com MPS II chamado *Hunter Outcome Survey* (HOS), patrocinado pela Shire, foi criado em 2005, por exigência do FDA (do inglês *Food and Drug Administration* - Agência Nacional de Vigilância Sanitária americana), com o objetivo de coletar dados de longo-prazo sobre a eficácia e segurança de Elaprase® e sobre a história natural da doença e seu manejo. O registro é aberto a indivíduos com diagnóstico bioquímico ou genético de MPS II, e inclui pacientes não-tratados, pacientes em uso de Elaprase® e pacientes que realizaram TCTH (Muenzer *et al.*, 2017).

Após mais de 10 anos de coleta de dados, em janeiro de 2016, o registro contava com dados de 1096 pacientes de 124 centros de tratamento em 29 países. A análise dos dados trouxe significativa contribuição sobre o entendimento da apresentação clínica e progressão da MPS II numa população grande e heterogênea, o que não teria sido possível num estudo clínico formal (Muenzer *et al.*, 2017).

Como a enzima recombinante não atravessa a BHE, a TRE por via intravenosa não tem efeito sobre a degeneração progressiva do SNC; sintoma que traz maior morbidade aos pacientes com a forma neuronopática da MPS II. Espera-se melhora ou estabilização das manifestações somáticas, mas nenhum

efeito sobre a neurodegeneração. Recomenda-se que antes de se iniciar a TRE as perspectivas e expectativas com o tratamento sejam explicitadas de forma clara para os pais e/ou cuidadores. Os benefícios globais devem ser avaliados após cerca de 12 meses de TRE para que médicos e pais e/ou cuidadores possam decidir em conjunto a validade da manutenção do tratamento, levando-se em conta o estágio clínico do paciente, a taxa de progressão da doença neurológica e os riscos e benefícios associados ao tratamento (Muenzer *et al.*, 2012; Lampe *et al.*, 2014).

#### **2.4.2 Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas na Mucopolissacaridose Tipo II**

Cerca de dois terços dos pacientes com a síndrome de Hunter apresentam a forma neuronopática da doença (Young e Harper, 1983). Para estes pacientes, a TRE não traz benefícios em longo prazo já que, como não ultrapassa a BHE (Kakkis *et al.*, 2004; Dickson *et al.*, 2007; Tolar e Orchard, 2008; Hemsley *et al.*, 2009; Muenzer *et al.*, 2009a; Dickson *et al.*, 2010), não é capaz de atuar sobre a neurodegeneração progressiva, sintoma mais marcante da doença.

O TCTH é a única opção terapêutica atualmente disponível capaz de prevenir a neurodegeneração em doenças progressivas (Krivit, 2004; Boelens *et al.*, 2014). Ele se tornou o tratamento de escolha para as formas graves da MPS I na qual o transplante bem sucedido é capaz de preservar a neurocognição, melhorar muitos aspectos da doença somática e aumentar a sobrevida dos pacientes quando realizado precocemente (Muenzer *et al.*, 2009b; de Ru *et al.*, 2011; Poe *et al.*, 2014; Aldenhoven *et al.*, 2015a; Gosh *et al.*, 2016).

A experiência clínica com o TCTH na síndrome de Hunter é pequena. Tabela 2. Poucos transplantes foram realizados até hoje, principalmente após o surgimento da TRE. Esta modalidade de tratamento só foi avaliada como parte de coortes heterogêneas de pacientes transplantados com diferentes doenças metabólicas ou como relatos de casos, sem que critérios rígidos para sua indicação fossem seguidos e sem uma avaliação dos desfechos em longo prazo (Peters e Steward, 2003; Prasad *et al.*, 2008; Wynn *et al.*, 2009).

A maioria das crianças transplantadas tinha idade avançada e/ou já apresentava algum grau de comprometimento neurológico no momento do transplante, ou seja, pacientes considerados não-ideais ao transplante. Em alguns procedimentos ainda utilizou-se um irmão como doador, resultando em baixos níveis enzimáticos mesmo com boa enxertia (Peters e Steward, 2003). Os desfechos poderiam ter sido diferentes se o TCTH tivesse sido realizado mais precocemente, antes do início das manifestações neurológicas da doença, e com doador não aparentado, o que levaria à otimização dos níveis enzimáticos pós-transplante (Boelens *et al.*, 2014).

As publicações disponíveis mostram resultados variáveis. Quando a enxertia é bem sucedida, a atividade enzimática da I2Sse normaliza em leucócitos, mas permanece baixa no plasma. A excreção urinária de GAG se normaliza ou alcança níveis próximos da normalidade. Há melhora ou resolução de vários sinais e sintomas somáticos da doença e estabilização do quadro em outros. Em relação ao desfecho neurológico, parece ocorrer uma variabilidade de resposta, na dependência do fenótipo do paciente (Bergstrom *et al.*, 1994; Coppa *et al.*, 1995; McKinnis *et al.*, 1996; Vellodi *et al.*, 1999; Guffon *et al.*, 2009).

Tabela 2 . Características dos pacientes que receberam TCTH para a síndrome de Hunter registrados no CIBMTR

<b>Variável</b>	<b>N (%)</b>
Número de pacientes	76
Número de centros de transplante	31
Idade no momento do transplante, anos	
Média(variação)	3 (<1-8)
<1	9 (12)
1-4	53 (70)
5-8	14 (18)
Sexo	
Masculino	73 (96)
Feminino	3 (4)
Tipo de doador	
Irmão HLA-idêntico	23 (30)
Outro parente	14 (18)
Não-aparentado	39 (51)
Tipo de enxerto	
Medula óssea	50 (66)
Sangue periférico	1 (1)
Sangue de cordão	25 (33)
Ano do transplante	
1981-1990	15 (20)
1991-2000	32 (42)
2001-2010	18 (24)
2011-2017	11 (14)
Média de acompanhamento dos sobreviventes (variação), meses	84 (3-289)
Sobrevida global após o transplante (intervalos de confiança de 95%)	
1 ano após o TCTH	71 (59-81)%
2 anos após o TCTH	69 (57-80)%
3 anos após o TCTH	67 (56-78)%

Os dados apresentados são preliminares e foram fornecidos pelo Centro Coordenador do Centro Internacional para Pesquisa de Transplante de Medula e Sangue (CIBMTR . do inglês *Center for International Blood and Marrow Transplant Research*).

O resultado neurológico relativamente pior em comparação aos outros sistemas orgânicos pode estar relacionado à limitada capacidade dos leucócitos do doador em penetrar o SNC. No cérebro, as células da microglia são parcialmente substituídas por células do doador, que liberam enzima para os neurônios adjacentes. Entretanto, este processo pode ser lento e incompleto, limitando o sucesso do transplante em doenças com manifestações neurológicas rapidamente progressivas (Hollak e Wijburg, 2014).

A indicação do TCTH como modalidade terapêutica para a forma neuronopática da síndrome de Hunter ainda parece duvidosa na literatura médica. O TCTH deixou de ser realizado após o advento da TRE para a MPS II e a literatura científica disponível está ultrapassada. Ainda não se tem o relato de longo prazo de crianças transplantadas precocemente para que se possa avaliar os reais benefícios neurocognitivos do transplante.

### 3 HIPÓTESE E OBJETIVOS

- **Hipótese:**

O transplante de células-tronco hematopoiéticas quando realizado precocemente é capaz de proporcionar benefícios em termos neurocognitivos em pacientes com a forma neuronopática da síndrome de Hunter.

- **Objetivos:**

- **Geral:**

Avaliar o transplante de células-tronco hematopoiéticas como opção terapêutica para a forma neuronopática da mucopolissacaridose tipo II visando a preservação da neurocognição

- **Específicos:**

Analisar, através de revisão da literatura, o transplante de células-tronco hematopoiéticas como opção terapêutica para a forma neuronopática da mucopolissacaridose tipo II

Relatar um caso bem sucedido de transplante de células-tronco hematopoiéticas em um paciente com a forma neuronopática da mucopolissacaridose tipo II

#### 4 CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA SOBRE TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS NA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO II

Com o surgimento da pesquisa clínica nos anos 1960, emerge um novo modelo de ensino e prática médica. Nele, o médico é estimulado a embasar suas decisões clínicas em resultados de estudos sistemáticos, apoiado no conhecimento adquirido pela experiência clínica e pelo estudo da fisiopatologia das doenças. Este paradigma contrapõe-se ao padrão anterior, que enfatizava a importância de uma autoridade científica, fornecendo ao médico ferramentas para avaliar a credibilidade da opinião dos especialistas. Este novo modelo recebeu o nome de Medicina Baseada em Evidência e vem ganhando força com as revisões sistemáticas e metanálises“ (*Evidence-based Medicine Workgroup*, 1992).

As revisões sistemáticas são consideradas estudos secundários, que têm nos estudos primários sua fonte de dados. Entende-se por estudos primários os artigos científicos que relatam os resultados de pesquisa em primeira mão. São mais frequentes as revisões sistemáticas de ensaios clínicos randomizados. Quando se verifica que os estudos primários incluídos em revisão sistemática seguem procedimentos homogêneos, os seus resultados são combinados, utilizando-se técnicas de metanálise (Galvão e Pereira, 2014)

Os ensaios clínicos controlados e randomizados são considerados o padrão-ouro de evidência sobre o efeito de uma intervenção (Sackett *et al.*, 1992). A qualidade deste tipo de estudo reside na tentativa de se eliminar quaisquer tipos de vieses que venham a influenciar nos resultados obtidos. Entretanto, os estudos controlados e randomizados ainda possuem limitações já que a seleção de pacientes deve seguir rígidos critérios de inclusão e exclusão pré-definidos. Se por um lado esta característica aumenta a validade interna de um estudo, por outro impede a generalização de seus resultados para uma população heterogênea (Fletcher e Fletcher, 2006). A maneira encontrada para

---

Revisão sistemática e metanálise: são tipos de estudos que visam responder questões clínicas específicas, que utiliza como fonte a literatura científica. Empregam uma abordagem pré-determinada para identificação de estudos primários, para a avaliação de qualidade destes e a síntese dos resultados. Na meta-análise os resultados são combinados com técnicas de estatística, de forma a fornecer informações mais precisas sobre a magnitude do efeito (Fletcher e Fletcher, 2006).

se superar este problema é a condução de ensaios clínicos com grande número de pacientes.

Devido à raridade da MPS II, estudos clínicos controlados e randomizados que avaliem a eficácia do TCTH sobre a evolução da doença não existem e são improváveis de acontecerem. Então, na tentativa de se avaliar os resultados obtidos até o momento e entender por que o TCTH tem sido rejeitado pela maioria dos especialistas como modalidade terapêutica para a MPS II, buscou-se levantar todos os casos já relatados na literatura científica sobre o tema.

#### **4.1 Materiais e Métodos**

O estudo dividiu-se em três etapas:

- Fase 1 . Busca pelos estudos primários
- Fase 2 . Seleção dos artigos
- Fase 3 . Análise dos dados

- **Fase 1 - Fontes e estratégias de busca**

A busca eletrônica foi realizada nas seguintes bases de dados:

- Medline . Organizada pela Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos.
- Lilacs/BVS . Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde, organizado pela BIREME.
- Cochrane Library
- DARE . *Database of Abstracts of Reviews of Effects*, organizado pelo *Centre for Review and Dissemination* da Universidade de York, Reino Unido
- SciELO
- SCOPUS . Fundação CAPES

As bases de dados supracitadas foram selecionadas por abrangerem grande número de periódicos de diferentes países

Na tentativa de se identificar o maior número possível de trabalhos para inclusão na revisão, realizou-se uma estratégia de busca mais sensível, em detrimento da especificidade. Para a pesquisa nas diversas bases de dados foram utilizadas combinações diferentes dos termos *“mucopolysaccharidosis II”, “Hunter syndrome”, “hematopoietic stem cell transplantation”, “bone marrow transplantation”* e *“umbilical cord blood stem cell transplantation”*, após consulta no MeSH (Medical Subject Heading) e DeCS (descriptor de assunto).

Foram incluídos relatos de casos apresentados em congressos e publicados em suplementos especiais de revistas indexadas, mas não foi realizada busca na literatura cinza (do inglês, *grey literature*); que compreende a literatura não publicada formalmente, já que não haveria garantias sobre a veracidade e autenticidade dos dados.

Não foi estabelecido limite de data para a pesquisa já que o objetivo era encontrar o maior número possível de trabalhos disponíveis na literatura. As buscas foram realizadas até maio de 2017.

- **Fase 2 É Seleção dos artigos**

Por tratar-se de uma condição rara, não esperávamos encontrar um grande número de trabalhos. Por este motivo todos os artigos sobre TCTH em pacientes com MPS II foram incluídos na avaliação, sendo excluídos somente aqueles cujo transplante foi realizado em pacientes com outro tipo de MPS que não a síndrome de Hunter e aqueles que avaliaram o TCTH modelos animais da MPS II.

Todos os estudos identificados na busca inicial, respeitando-se os critérios de exclusão, tiveram seus resumos avaliados. Quando estes não estavam disponíveis, estudou-se o artigo na íntegra.

- **Fase 3 É Análise dos dados**

A síntese dos dados foi realizada de forma descritiva, baseando-se nos resultados apresentados em cada artigo.

## 4.2 Resultados

Na ausência de estudos formais que avaliassem o TCTH como modalidade terapêutica para a MPS II, buscou-se levantar todos os trabalhos já publicados sobre o assunto e descrever sucintamente todos os casos de TCTH II já descritos na MPS II.

Após a definição dos termos utilizados na pesquisa bibliográfica e consulta às bases de dados selecionadas, foram encontrados 764 artigos . Tabela 3. Muitas bases eletrônicas indexam os mesmos periódicos e referências redundantes foram recuperadas. O fato de termos utilizado mais de um mecanismo de busca, em algumas bases, também contribuiu para a redundância. Do total de artigos recuperados, 645 foram excluídos após a leitura do título e/ou resumo, restando 119. Após a exclusão dos artigos repetidos, 36 artigos foram lidos integralmente. Destes, 10 ainda foram excluídos por somente fazerem referência a TCTH já descritos previamente ou por tratarem de questões éticas a respeito do TCTH na síndrome de Hunter, restando 26 artigos que foram incluídos nesta revisão . Figura 1.

As referências bibliográficas dos 26 trabalhos incluídos na revisão também foram consultadas na tentativa de se encontrar artigos que porventura não foram identificados através da pesquisa nas bases de dados eletrônicas. As referências bibliográficas dos artigos inicialmente incluídos e as novas referências encontradas a partir deles estão listadas no Apêndice 1.

Tabela 3 . Síntese das bases eletrônicas utilizadas, dos mecanismos de busca empregados em cada base e número de referências encontradas

<b>Base de Dados</b>	<b>Número de Referências</b>
Mecanismo de Busca	
<b>Medline/PubMed</b>	
Mucopolysaccharidosis II [MeSH] AND hematopoietic stem cell transplantation[MeSH]	17
Mucopolysaccharidosis II [MeSH] AND cord blood stem cell transplantation [MeSH]	2
Mucopolysaccharidosis II [MeSH] AND bone marrow transplantation [MeSH]	20
Mucopolysaccharidosis II OR Hunter syndrome AND hematopoietic stem cell transplantation	55
Mucopolysaccharidosis IIOR Hunter syndrome AND cord blood stem cell transplantation	15
Mucopolysaccharidosis II OR Hunter syndrome AND bone marrow transplantation	7
<b>LILACS/BVS</b>	
Mucopolissacaridose II (DeCS) AND transplante de células-tronco hematopoiéticas (DeCS)	31
Mucopolissacaridose II (DeCS) AND transplante de medula óssea (DeCS)	29
Mucopolissacaridose II (DeCS) AND transplante de células-tronco do cordão umbilical (DeCS)	7
<b>Cochrane Library</b>	
Mucopolysaccharidosis II [MeSH] AND hematopoietic stem cell transplantation[MeSH]	0
Mucopolysaccharidosis II [MeSH] AND cord blood stem cell transplantation [MeSH]	0
Mucopolysaccharidosis II [MeSH] AND bone marrow transplantation [MeSH]	0
<b>DARE</b>	
Mucopolysaccharidosis II AND hematopoietic stem cell transplantation	0
Mucopolysaccharidosis II AND cord blood stem cell transplantation	0
Mucopolysaccharidosis II AND bone marrow transplantation	0
<b>SciELO</b>	
Mucopolysaccharidosis II AND hematopoietic stem cell transplantation	0
Mucopolysaccharidosis II AND cord blood stem cell transplantation	0
Mucopolysaccharidosis II AND bone marrow transplantation	2
Hunter syndrome AND hematopoietic stem cell transplantation	0
Hunter syndrome AND cord blood stem cell transplantation	0
Hunter syndrome AND bone marrow transplantation	2
<b>SCOPUS</b>	
Mucopolysaccharidosis II AND hematopoietic stem cell transplantation	67
Mucopolysaccharidosis II AND cord blood stem cell transplantation	118
Mucopolysaccharidosis II AND bone marrow transplantation	3
Hunter syndrome AND hematopoietic stem cell transplantation	143
Hunter syndrome AND cord blood stem cell transplantation	253
Hunter syndrome AND bone marrow transplantation	7

MeSH (Medical Subject Heading); DeCS (descriptor de assunto)

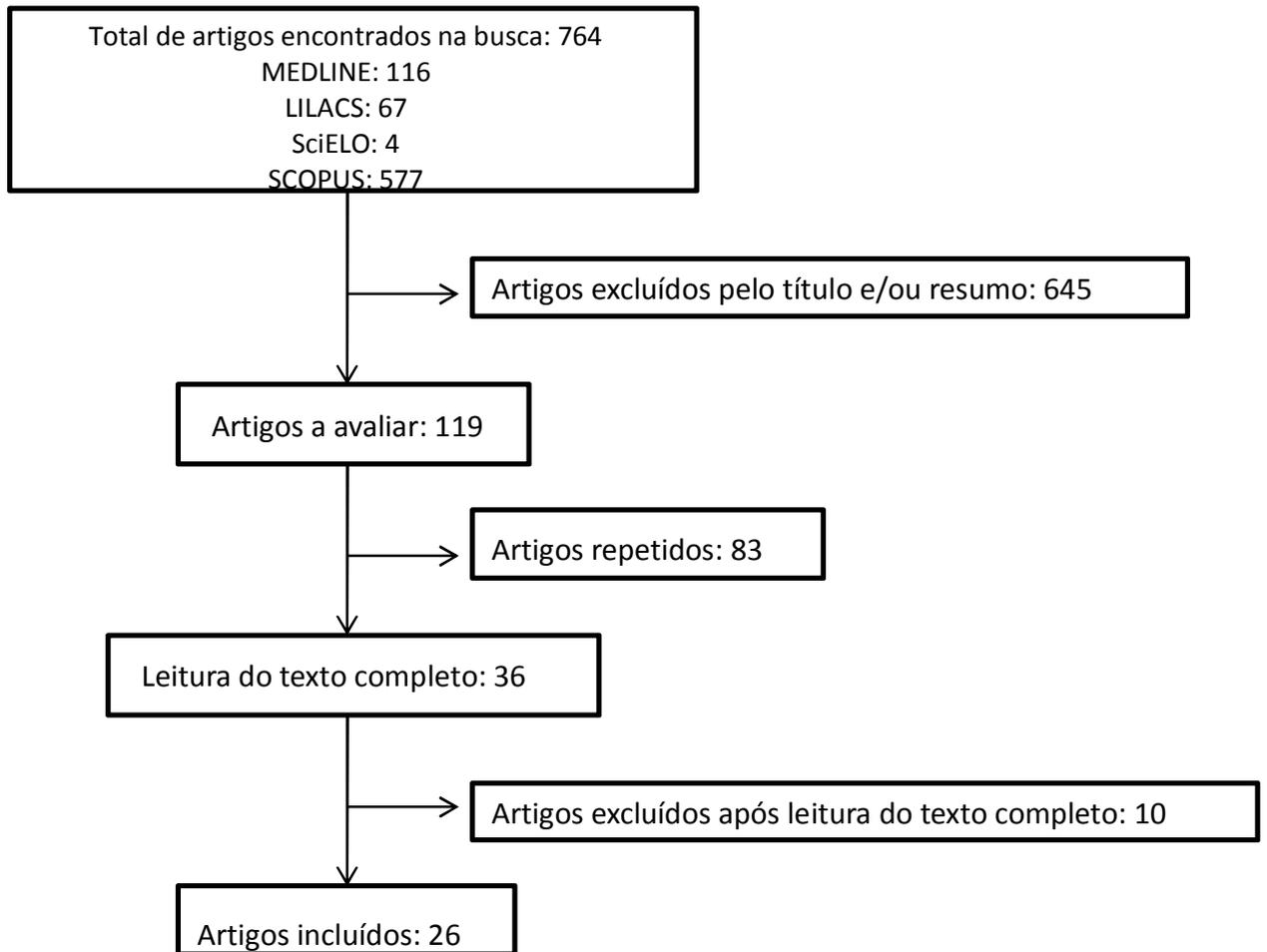


Figura 1 . Fluxograma da seleção dos artigos

Os primeiros casos de síndrome de Hunter tratados com TCTH foram relatados por Hug-Jones e colaboradores em 1984. Dos quatro pacientes transplantados, dois morreram logo após o procedimento, um, transplantado com 3 anos e 9 meses, desenvolveu doença enxerto versus hospedeiro crônica, e o quarto paciente transplantado com 1 ano e 8 meses, não apresentou boa enxertia. Ambos pacientes não apresentaram benefícios com o TCTH e dados clínicos e bioquímicos não foram apresentados.

Dois anos depois, em 1986, Hobbs e colaboradores relataram que os dois pacientes descritos acima não mostraram melhoras significativas, possivelmente devido à doença do enxerto versus hospedeiro em um e ao quimerismo misto no outro. Um terceiro paciente ainda é relatado como tendo sido transplantado, mas o autor não dá maiores informações sobre ele.

O primeiro paciente com dados clínicos e bioquímicos relatados foi descrito em 1986 por Warketin e colaboradores. O paciente foi submetido a TCTH aos 7 anos e 5 meses; apresentava quociente de inteligência (QI) inicial de 87, que caiu para 73 (principalmente devido a atraso de linguagem) e estabilizou após o transplante. Ele apresentou redução das lesões de pele e do hirsutismo, melhora da rigidez articular e da mobilidade, resolução da hepatoesplenomegalia e normalização da excreção urinária e líquórica de GAG. A atividade a I2S normalizou em leucócitos, mas permaneceu bem abaixo da normalidade no plasma. Após três anos e meio do transplante o paciente morreu subitamente e a necropsia revelou depósito de GAG nas valvas cardíacas e no cérebro.

Em 1990, Persyk e colaboradores descreveram alterações ultra-estruturais ocorridas uma no pós-transplante em um paciente tratado aos 4 anos. Neste caso, houve redução do material depositado nos vacúolos lisossômicos de hepatócitos, enquanto na mucosa retal, os vacúolos diminuíram em fibroblastos, mas não nos neurônios nem nas células de Schwamm. Os autores não forneceram dados clínicos nem bioquímicos.

A descrição de outro TCTH foi feita por Krivit e Shapiro em 1991, num paciente de 4 anos e 4 meses. Três anos após o procedimento, houve redução progressiva do QI principalmente devido à dificuldade de aprendizagem durante este período. Nenhum outro dado clínico ou bioquímico foi fornecido.

Em 1992, Harris e colaboradores publicaram um novo caso de TCTH num paciente com síndrome de Hunter com 5 anos e 4 meses. Após um

acompanhamento de dezoito meses, houve normalização completa da hepatoesplenomegalia e uma biópsia hepática demonstrou desaparecimento completo das vesículas com depósito de GAG. A atividade da I2S hepática era 10% do normal, enquanto a atividade enzimática no plasma era de 30% do normal. Uma clara redução no padrão de excreção urinária de GAG foi observada após nove meses. O ecocardiograma não mostrou melhora após o transplante, assim como o inventário ósseo. A ressonância magnética (RM) de encéfalo revelou melhora na mielinização da substância branca, mas não houve mudança no funcionamento neuropsicológico.

Em 1993, Hug e colaboradores numa atualização sobre o paciente acima, relataram que 34 semanas após o transplante, houve completa normalização dos fibroblastos quando observados à microscopia eletrônica.

Um trabalho de Wagner em 1993 relatou o uso de sangue de cordão umbilical como fonte para o TCTH em 15 crianças com doenças malignas e não malignas. Um dos pacientes transplantados nesta coorte apresentava a síndrome de Hunter; entretanto, ele não apresentou boa enxertia após o transplante.

No ano seguinte, em 1994, Scott e colaboradores descreveram o seguimento de quatro anos de um paciente transplantado aos 2 anos e meio. Apesar da enxertia bem sucedida e de melhora nos sintomas somáticos, foi observada redução do QI de 75 para 20. A atividade da I2S era normal em leucócitos, mas baixa (26%) no plasma.

Bergstrom e colaboradores, também em 1994, relataram os resultados do TCTH em um paciente de 14 anos com a forma não-neuronopática. Três anos após o procedimento, o paciente apresentava melhora significativa, tanto subjetiva quanto objetivamente, nos sintomas da doença. Houve resolução dos nódulos cutâneos e da hepatoesplenomegalia, atenuação das características faciais, melhora da mobilidade articular, principalmente nas mãos e o ecocardiograma mostrou redução do espessamento dos folhetos valvares com resolução da insuficiência mitral. O paciente voltou a freqüentar a escola sete meses após a realização do transplante e continuou tendo ganhos na sua função intelectual.

Mais um caso de TCTH em paciente com MPS II não-neuronopática foi descrito por Imaizumi e colaboradores em 1994. O paciente foi transplantado aos

9 anos e 10 meses e um ano e meio depois apresentava melhora no aspecto facial, nas contraturas articulares, hepatomegalia, lesões de pele e estatura. A disfunção valvar cardíaca não progrediu, mas não houve melhora no déficit auditivo neurossensorial nem nas deformidades ósseas.

Miniero e colaboradores ainda em 1994, relataram o caso de um paciente com 31 meses com a forma neuronopática da MPS II que recebeu fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF) após transplante de medula óssea. Quimerismo completo foi confirmado com 11 e 80 dias após o transplante. Ele não apresentou intercorrências nem doença do enxerto versus hospedeiro. Dois meses após o transplante, biópsias de pele e fígado mostram estabilização da doença. Seis meses após o transplante, houve redução da excreção urinária de GAG para níveis próximos da normalidade, a atividade da I2S em leucócitos normalizou, enquanto no plasma permaneceu indetectável. A administração de G-CSF não induziu a proliferação de histiócitos de medula óssea. Este relato sugeriu que G-CSF deveria ser recomendado para pacientes submetidos ao TCTH a fim de reduzir o período de neutropenia associado ao regime quimioterápico preparativo para o transplante.

Coppa e colaboradores, em 1995, relataram o seguimento durante dois anos de um paciente transplantado aos 2 anos e 9 meses. Durante o período houve normalização da hepatoesplenomegalia, retomada da curva de crescimento, redução da espessura da pele e do hirsutismo, e importante melhora na mobilidade articular. A avaliação do inventário ósseo mostrou estabilização do quadro em relação ao estado pré-transplante, assim como a RM de encéfalo e a audiometria. Ao ecocardiograma, houve normalização do tamanho ventricular; a excreção urinária de GAG diminuiu progressivamente ao longo dos primeiros seis meses e estabilizou em níveis próximos ao normal. A atividade enzimática em leucócitos se normalizou, mas permaneceu bem abaixo da faixa de normalidade no plasma. A avaliação neuropsicológica longitudinal mostrou significativa piora após o terceiro mês de transplante, principalmente no que diz respeito à capacidade verbal. Vinte meses após o transplante, houve recuperação parcial nos desempenhos motores e de relação, enquanto a capacidade verbal permaneceu inalterada.

Também em 1995, Shapiro e colaboradores publicaram o desfecho neuropsicológico de dezesseis crianças com síndrome de Hunter submetidas a

TCTH. O trabalho mostrou que o tratamento não foi capaz de impedir a deterioração neurológica (definida como QI abaixo de 50) em quinze delas. Entretanto, todas apresentavam sintomas da doença e todas tinham mais de 2 anos no momento do transplante.

Em 1996, McKinnis e colaboradores relataram o caso de um paciente transplantado em 1988 aos 29 meses de idade. Após cinco anos e meio, os níveis da I2S em leucócitos eram normais enquanto no plasma eram de apenas 25% do valor normal. A excreção urinária de GAG diminuiu para níveis próximos ao limite superior da normalidade. Biópsias hepáticas seriadas mostraram importante redução do material depositado em todos os tipos celulares, entretanto, as biópsias retais seriadas demonstraram depósito de GAG nas estruturas neurais, com redução do depósito em estruturas não neurais. Houve melhora em alguns sintomas somáticos como fácies e cabelo e na mobilidade articular, mas as deformidades esqueléticas e o déficit auditivo não melhoraram, mas também não progrediram. Apesar do sucesso clínico do transplante, com boa enxertia, níveis normais de I2S e melhora física, seu status intelectual continuou deteriorando. Aos 8 anos de idade os resultados dos testes cognitivos mostravam um QI <20, compatível com uma criança de 6 meses. Houve perda da capacidade intelectual e das funções adaptativas e da linguagem, associadas a problemas de comportamento.

Ainda em 1996, Li e colaboradores descreveram o acompanhamento de um paciente com a forma neuronopática da MPS II submetido a TCTH aos 5 anos. Fígado e baço voltaram ao tamanho normal e a excreção urinária de GAG normalizou um ano após o transplante. Três anos após o TCTH, houve melhora da mobilidade articular e da capacidade motora e estabilização da função neurocognitiva e cardíaca. A atividade da I2S no plasma alcançou o limite da normalidade quatro anos após o TCTH e permaneceu em torno de 60% do valor normal em leucócitos.

Vellodi e colaboradores relataram em 1999 o seguimento de longo prazo de três pacientes com MPS II submetidos ao TCTH, de uma coorte inicial de dez pacientes transplantados. Destes, sete faleceram após a realização do transplante (realizados entre 1982 e 1985). Dos três pacientes que sobreviveram, dois (um transplantado aos 20 meses e outro transplantado com 5 anos e 1 mês) apresentaram progressão do processo neurodegenerativo. O

terceiro paciente submetido ao TCTH aos 10 meses apresentou estabilização do quadro neurológico. Após sete anos do transplante, apresentava um QI limítrofe de 78, certa dificuldade de concentração, mas continuava frequentando escola regular. Este último paciente apresentava história familiar positiva para MPS II e comparativamente pós-transplante apresentou evolução melhor que seu tio materno afetado.

Ainda em 1999, Coppa e colaboradores relataram o seguimento de quatro anos de um paciente com a forma não-neuronopática da MPS II submetido ao TCTH aos 3 anos. Houve atenuação das características faciais, a pele estava menos espessa, a ultrassonografia abdominal mostrou resolução da hepatoesplenomegalia e ele apresentava somente pequena limitação articular. Seu QI se manteve estável em 70, ele falava frases curtas e conhecia algumas letras do alfabeto. A análise ultra-estrutural de hepatócitos e fibroblastos mostrou somente alguns poucos vacúolos remanescentes. Em relação aos parâmetros bioquímicos, a excreção urinária de GAG e a atividade da I2S em leucócitos se normalizaram.

Mullen e colaboradores em 2000 descreveram o resultado de longo prazo do TCTH em um menino de 10 meses com MPS II não-neuronopática. Houve resolução da hepatomegalia e seu crescimento e desenvolvimento eram normais, entretanto, após 9 meses, o transplante foi complicado pelo desenvolvimento de anemia hemolítica auto-imune. O paciente necessitou de tratamento com corticóide e outros imunossupressores por dois anos e permaneceu com o teste Coombs direto positivo.

Em 2004, Ito e colaboradores avaliaram cinco pacientes com MPS II, com idades entre 4 e 11 anos, submetidos a TCTH. Eles verificaram que as pápulas branco-amareladas características da doença desapareceram completamente em até 35 dias após o transplante (média de 18 dias) em todos os pacientes. Eles observaram também que a espessura da pele tendeu a se normalizar pós-TCTH.

A avaliação ultra-estrutural do comprometimento de nervos cutâneos antes e depois do TCTH foi publicada em 2005 por Ochiai e colaboradores em três pacientes com MPS II. Dois pacientes foram submetidos ao TCTH aos 5 anos e o terceiro aos 8 anos. Estudos por microscopia eletrônica mostraram que vacúolos claros continuaram presentes no citoplasma de fibroblastos

endoneurais e de células de Schwann, 2 meses e 2 anos, respectivamente, após o transplante. Por outro lado, somente poucos vacúolos permaneciam nos fibroblastos da derme dois meses após o TCTH e que desapareceram após dois anos do transplante. Esses resultados sugerem que a existência de uma barreira hemato-neural (como a BHE no SNC) pode ser responsável por não permitir a correção enzimática no meio interno dos nervos cutâneos e assim não prevenir a degeneração psicomotora nos pacientes submetidos ao TCTH.

Em 2007, Escolar e colaboradores relataram o desenvolvimento neurológico de 5 crianças que receberam transplante de células de cordão umbilical. As idades no momento do transplante variaram de 0,26 a 3,4 anos e o período de acompanhamento variou entre 1,7 e 3,9 anos. Quatro pacientes apresentaram enxertia completa e um apresentou quimerismo misto. Esse paciente faleceu após um segundo TCTH por complicações relacionadas à doença do enxerto versus hospedeiro. Os quatro pacientes que sobreviveram apresentaram ganhos cognitivos, motores, de linguagem e de habilidades adaptativas. O paciente mais velho, que necessitou da colocação de derivação ventrículo-peritoneal por aumento da pressão intracraniana, apresentou a taxa de ganhos mais lenta. Os autores concluíram que, apesar do déficit auditivo leve presente em todos os quatro pacientes, eles continuaram a apresentar ganhos neurológicos em todas as áreas. E o acompanhamento em longo-prazo é necessário para determinar se o desenvolvimento neurológico seguirá de modo adequado.

Uma longa série de casos de pacientes com síndrome de Hunter, tratados com TCTH, foi relatada em 2009 por Guffon e colaboradores. O estudo envolveu oito pacientes com idades entre 3 e 16 anos no momento do transplante. Cinco meninos apresentavam a forma neuronopática (diagnóstico antes dos 4 anos de idade e  $QI < 80$ ), dois tinham a forma não-neuronopática (diagnóstico com 5 anos e  $QI$  normal) e um foi considerado como tendo um fenótipo intermediário (diagnóstico antes dos 4 anos e  $QI \sim 80$  e  $< 90$ ). Um dos pacientes com a forma neuronopática, transplantado aos 3 anos e 11 meses, faleceu subitamente aos 10 anos de idade de causa não relacionada ao transplante. Os sete pacientes restantes foram acompanhados por períodos que variaram de 7 a 17 anos e apresentavam entre 9 e 24 anos na última avaliação. Todos apresentavam atividade da I2S normal em leucócitos e baixa no plasma. Os níveis urinários de

GAG estavam próximos ao limite superior da normalidade. Houve resolução da hepatoesplenomegalia e da rigidez articular em todos; também houve melhora da rinorréia persistente e da obstrução das vias aéreas superiores. Alterações valvares foram detectadas em todos antes do transplante, mas foi observada deterioração subsequente ao transplante. Os desfechos neuropsicológicos foram variados. Os dois meninos com a forma não-neuronopática atingiram a idade adulta com QI normal, desenvolvimento escolar e social normal, sem comprometimento da linguagem. Quatro pacientes com a forma neuronopática deterioraram após o TCTH; três perderam a capacidade de deambular no início da adolescência, dois perderam a linguagem com 9 e 11 anos e dois desenvolveram epilepsia. Os outros dois pacientes necessitaram de escola especial e tinham poucas habilidades sociais e de linguagem. Com relação ao comprometimento auditivo, o déficit neurossensorial permaneceu estável após o transplante e o déficit de transmissão melhorou. Quatro meninos estavam em uso de próteses auditivas na última avaliação.

Araya e colaboradores, em 2009, descreveram o caso de um paciente de 6 anos com a forma neuronopática da MPS II submetido ao TCTH. Ele faleceu dez meses após o procedimento devido à doença linfoproliferativa laríngea. Durante o período de acompanhamento pós-transplante não houve melhora na hiperatividade, no QI ou nos achados na RM de encéfalo. Análises bioquímicas e histopatológicas em tecidos autopsiados mostraram a presença de células distendidas com material depositado no cérebro, mas não no fígado. A atividade da I2S no cérebro permanecia muito baixa enquanto no fígado estava em 40% do valor normal. Análises por repetição em tandem mostraram bandas fracas, derivadas do doador, não só no fígado como também no cérebro. Além disso, foi reconhecida imunorreatividade da I2S não só nas células de Kupfer, mas também em hepatócitos. Imunorreatividade da I2S também foi encontrada em células da microglia, localizadas predominantemente nos espaços perivasculares e algumas no parênquima cerebral. A eficácia do TCTH dez meses depois foi considerada insuficiente para o cérebro, mas a detecção de células derivadas do doador no parênquima cerebral sugere o potencial do TCTH para o tratamento dos sintomas neurológicos da MPS II.

O neurodesenvolvimento de nove pacientes submetidos ao TCTH foi relatado em 2011 por Poe e colaboradores. Os pacientes tinham entre 1,5 e 47

meses no momento do transplante e foram acompanhados por períodos que variaram entre 7 meses e 7 anos. Dois pacientes faleceram após o transplante. Durante o período de avaliação, os pacientes realizaram entre três e doze avaliações neuropsicológicas. Dos sete pacientes vivos, cinco continuaram a apresentar ganhos em alguns ou em todos os domínios do desenvolvimento. Um paciente apresentou desenvolvimento normal em quatro dos seis domínios avaliados. O trabalho concluiu que ocorreu atraso no desenvolvimento após o TCTH, embora sejam necessárias mais investigações para esclarecer o porquê desta variabilidade.

Em 2012, Tanaka e colaboradores publicaram os resultados de uma avaliação retrospectiva sobre a eficácia de TCTH realizados entre 1990 e 2003 em 21 pacientes com ambas formas da MPS II. As idades no momento do transplante variaram de 2 anos a 19 anos e 8 meses (média de  $64,2 \pm 30,2$  meses) e a taxa de sobrevida após cinco anos foi de 88,5%. Os autores concluíram que o TCTH é um tratamento válido para os pacientes com MPS II quando realizado antes do surgimento de atrofia cerebral e do acometimento das valvas cardíacas.

Também em 2012, Escolar e colaboradores relataram o desenvolvimento de nove pacientes com o fenótipo neuronopático da síndrome de Hunter, transplantados com idades que variaram entre 1,5 e 47 meses. Eles foram acompanhados durante oito anos e comparados a 35 pacientes não transplantados. Os resultados mostraram que as crianças transplantadas com <18 meses apresentavam habilidades cognitivas, adaptativas e de linguagem muito próximas do normal. Todas as crianças transplantadas precocemente mostraram ganhos contínuos nestas habilidades, apesar de numa taxa mais lenta que as crianças normais. O desenvolvimento dos meninos transplantados após os 18 meses de idade atingia um platô e depois declinava para idades funcionais entre 1 e 3 anos. Dados clínicos mais consistentes não estão disponíveis.

O acompanhamento de longo prazo de quatro pacientes com a forma neuronopática da MPS II submetidos ao TCTH foi relatado em 2013 por Annibali e colaboradores. Os pacientes tinham idades entre 2 anos e 6 meses e 2 anos e 11 meses no momento do transplante. Avaliações neuropsicológicas mostraram estabilização do QI em três dos quatro pacientes nos 5 primeiros

anos pós-transplante, seguido por piora do quadro neurológico. Dois pacientes que apresentavam RM leve (QI=70) antes do transplante, permaneceram estáveis por 5 anos e depois passaram a apresentar RM moderado até a última avaliação, 16 e 7 anos após o TCTH (QI=35 e QI=40), respectivamente. O terceiro paciente, que já apresentava RM moderado antes do transplante (QI=49), apresentou deterioração neurológica e 8 anos depois apresentava RM muito grave (QI=15). O quarto paciente, que apresentava RM leve antes do TCTH (QI=80), se manteve estável até 8 anos após o transplante (QI=73). Os pacientes com a forma neuronopática da MPS II submetidos ao TCTH mostraram melhora ou estabilização dos sintomas somáticos enquanto o comprometimento neurológico mostrou progressão, embora de forma muito mais lenta do que o esperado.

O impacto da TRE e do TCTH sobre o crescimento de 44 pacientes japoneses com síndrome de Hunter foi avaliado por Patel e colaboradores em 2014. Vinte e seis pacientes foram tratados com TRE, doze com TCTH e seis receberam tanto TRE quanto TCTH. Peso e altura foram comparados com os de pacientes não tratados e com controles de estudos anteriores. Os pacientes que receberam tratamento, tanto com TRE quanto com TCTH, apresentaram pesos e alturas maiores que os pacientes não tratados. A TRE e o TCTH se mostraram igualmente eficazes em restaurar o crescimento nos pacientes com MPS II. Segundo os autores, o TCTH deve ser considerado como uma das primeiras opções terapêuticas para o tratamento precoce da MPS II, uma vez que também foram relatados efeitos positivos sobre cérebro e valvas cardíacas.

Em 2015, Tanjuakio e colaboradores testaram um novo questionário para avaliação do fenótipo clínico e eficácia terapêutica da TRE e do TCTH em pacientes com síndrome de Hunter. O grupo elaborou um questionário de atividades de vida diária (AVD) com três domínios: %movimento+, %movimento com cognição+e %cognição+. O questionário foi aplicado inicialmente em 138 controles saudáveis (0,33 e 50 anos) e sucessivamente em 72 pacientes com MPS II (4-49 anos), 51 com a forma neuronopática e 23 com a forma não-neuronopática. Vinte pacientes foram tratados com TCTH, vinte e três foram tratados com TRE iniciada até os 8 anos de idade, vinte e cinco iniciaram TRE depois dos 8 anos e quatro pacientes nunca receberam tratamento específico. As pontuações dos pacientes com comprometimento neurológico foram mais

baixas do que a dos controles e dos pacientes com a forma não-neuronopática, em todas as categorias. Entre os pacientes com a forma neuronopática, houve a tendência dos pacientes transplantados apresentarem pontuações mais elevadas do que os pacientes que iniciaram TRE m 8 anos, e houve uma diferença significativa na pontuação entre o grupo que recebeu TRE depois dos 8 anos e o grupo que realizou TCTH, tendo este último grupo alcançado pontuações maiores. O questionário mostrou os benefícios do tratamento precoce, com o TCTH apresentando resultados favoráveis em comparação à TRE, apesar das diferenças não terem sido estatisticamente significativas.

Cagle relatou brevemente em 2015 o caso de um paciente submetido ao TCTH aos 37 meses. Até os 4 anos de idade ele não apresentava sinais de regressão neurológica. Ela menciona a necessidade do desenvolvimento de biomarcadores mais confiáveis para o monitoramento tanto da doença quanto do tratamento.

Em 2016, Wang e colaboradores publicaram um trabalho sobre TCTH alogênico em 34 pacientes chineses com MPS. Destes, doze pacientes tinham MPS II e foram transplantados com idades entre 2 e 6 anos. Após o transplante, as avaliações de seguimento mostraram melhora da obstrução das vias aéreas, dos episódios recorrentes de otite média, da rigidez articular e da hepatoesplenomegalia. O déficit auditivo mostrou alguma melhora, o comprometimento valvar apresentou melhora em alguns pacientes e progressão em outros, enquanto não houve benefícios na parte esquelética. Em relação ao SNC, quatro pacientes apresentaram melhora significativa nas habilidades motoras e dois pacientes mostraram pequenos ganhos de linguagem. Os resultados sugerem que o TCTH alogênico é benéfico para o desenvolvimento neurológico dos pacientes com MPS II.

Muschol e colaboradores, também em 2016, resumiram os desfechos clínicos de dois pacientes submetidos ao TCTH aos 2,1 e 4,25 anos. Ambos pacientes apresentaram boa enxertia, normalização da atividade da I2S e declínio da excreção urinária de GAG. Após 2 anos do transplante, a hepatoesplenomegalia desapareceu em ambos. Um dos pacientes mostrou sinais de hiperatividade e comportamento agressivo seis meses após o TCTH; parou de falar 2 anos depois e após três anos do transplante apresentava atrofia cerebral progressiva. O outro apresentou atraso do desenvolvimento, mas

manteve as habilidades motoras e de linguagem; exames de imagem revelaram redução nas alterações da substância branca.

Recentemente, em 2017, Kubaski e colaboradores compararam os dados clínicos e bioquímicos de pacientes com MPS II que receberam TCTH e/ou TRE. Dados demográficos de 130 pacientes submetidos ao TCTH foram comparados aos de 54 pacientes tratados com TRE e 11 pacientes não tratados. Atividades de vida diária também foram avaliadas nestes pacientes. Um maior número de pacientes transplantados apresentou melhora nos sintomas somáticos, na rigidez articular e nas atividades de vida diária em comparação aos que receberam TRE. Ambos tratamentos promovem reduções significativas nos níveis de GAG, mas de modo geral, os pacientes submetidos ao TCTH apresentaram níveis de GAG mais baixos. Dois pacientes com a forma não-neuronopática apresentaram melhora na RM pós-transplante. Os autores afirmam que, apesar da necessidade de estudos controlados, o TCTH parece ser eficaz e pode ser considerado como opção terapêutica para os pacientes com MPS II.

Um resumo com as principais características dos trabalhos sobre TCTH na MPS II descritos acima é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 . Resumo das principais características de cada trabalho encontrado

Autor/Ano	Nº Pac	Idade	Óbitos	Forma	GAG	I2S	Avaliação Neurol	Falha Enxertia	DEVH	Conclusão
Hug-Jones, 1984	4	1a 8m-3a 9m	2					X	X	Sem benefícios / Sem clínica e BQ
Hobbs, 1986	2	1a 8m-3a 9m						X	X	Sem benefícios / Sem clínica e BQ
Warketin, 1986	1	7a 5m	1		X	X	X			Necrópsia: GAG no coração e cérebro
Persyk, 1990	1	4a								Redução GAG em hepatócitos / Sem clínica e BQ
Krivot, 1990	1	4a 4m					X			Redução do QI / Sem clínica ou BQ
Harris, 1992	1	5a 4m			X	X	X			Melhora mielinização. Sem benefício neuro
Hug, 1993	1	5a 4m								Normalização de fibroblastos
Wagner, 1993	1							X		Falha de enxertia com sangue de cordão
Scott, 1994	1	2a 6m				X	X			Benefícios somáticos, mas redução do QI
Bergstrom, 1994	1	14a		NN			X			Benefícios somáticos e neuro
Imaizumi, 1994	1	9a 10m		NN						Benefícios somáticos (exceto audição e osso)
Miniero, 1994	1	2a 7m			X	X				Uso de G-CSF
Coppa, 1995	1	2a 9m			X	X	X			Benefícios somáticos e algum neuro
Shapiro, 1995	16	>2a					X			Deterioração neurológica em 15
McKinnis, 1996	1	2a 5m			X	X	X			Benefícios somáticos, mas redução do QI
Li, 1996	1	5a		N	X	X	X			Benefícios somáticos e estabilização do QI
Vellodi, 1999	10	10m-5a 1m	7				X			Redução do QI em 2 e estabilização no 3º
Coppa, 1999	1	3a		NN	X	X	X			Benefícios somáticos e estabilização do QI

Mullen, 2000	1	10m		NN						Benefícios somáticos, mas anemia hemolítica
Ito, 2004	5	4a-11a								Avaliação dermatológica (pápulas)
Ochiai, 2005	3	5a-8a								Avaliação ultra-estrutural de nervos cutâneos
Escolar, 2007	5	3m-3a 4m	1				X	X (1)	X (1)	Ganhos neurológicos. Uso de sangue de cordão
Guffon, 2009	8	3a-16a	1	N(4)/NN(3)	X	X	X			Benefícios somáticos. Desfechos neuro variados
Araya, 2009	1	6a	1	N						Necrópsia: atividade da I2S na micróglia
Poe, 2011	9	1,5m-3a 11m	2				X			Ganhos neurológicos, mas há atraso
Escolar, 2012	9	1,5m-3a 11m					X			Ganhos contínuos (mas lentos) com TCTH <18m
Tanaka, 2012	21	2a-19a		N / NN						Válido antes da atrofia cerebral e alt. cardíaca
Annibali, 2013	4	2a6m-2a11m		N			X			Deterioração neurológica mais lenta q o esperado
Patel, 2014	18									Avaliou somente crescimento
Tanjuakio, 2015	20			N / NN						Questionário sobre qualidade de vida na MPS II
Cagle, 2015	1	3a 1m								Sem sinais de regressão até os 4a
Wang, 2016	12	2a-6a					X			TCTH é benéfico para desenvolvimento neurol
Muschol, 2016	2	2a1m-4a3m			X	X				Deterioração em 1 e estabilização neurol no outro
Kubaski, 2017	27			N / NN	X					TCTH parece eficaz e pode ser considerado

DEVH: doença do enxerto versus hospedeiro; BQ: bioquímica; NN: não-neuronopática; N: neuronopática; QI: quociente de inteligência; G-CSF: fator estimulador de colônia de granulócitos

### 4.3 Discussão

O TCTH é o único tratamento atualmente disponível capaz de prevenir a neurodegeneração progressiva que ocorre em algumas doenças metabólicas (Krivit, 2004; Boelens *et al.*, 2014; Aldenhoven *et al.*, 2015a; Boelens e van Hasselt, 2016). Ele se tornou o tratamento de escolha para a forma grave da MPS tipo I (síndrome de Hurler) já que é capaz de preservar a neurocognição quando realizado precocemente (Wraith *et al.*, 2007; de Ru *et al.*, 2011; Poe *et al.*, 2014; Gosh *et al.*, 2016). Desde 1980, mais de 600 TCTH já foram realizados em pacientes com a síndrome de Hurler (Boelens e van Hasselt, 2016).

A experiência clínica com o TCTH na MPS II é pequena. A maior parte da literatura disponível está ultrapassada e os poucos artigos disponíveis referem-se a coortes heterogêneas de pacientes transplantados com diferentes doenças metabólicas ou a relatos de casos isolados. Os dados disponíveis revelam a falta de critérios de seleção dos pacientes; muitos já apresentavam idades avançadas no momento do transplante, alguns tinham a forma branda enquanto outras apresentavam a forma neuronopática da MPS II, já com comprometimento neurológico. Os regimes de condicionamento utilizados foram bastante variados, assim com a fonte de células para o transplante. Além disso, os parâmetros de acompanhamento e os desfechos de interesse pós-TCTH também foram variados, impossibilitando a comparação e a generalização dos resultados obtidos.

Após 2006, com a aprovação da Idursulfase alfa (Elaprase®), a TRE tornou-se o tratamento de escolha para a MPS II. Apesar de sabidamente não ultrapassar a BHE e assim não ser capaz de prevenir a neurodegeneração que ocorre na forma neuronopática da MPS II, a TRE tornou-se o tratamento de escolha para os pacientes diagnosticados com a síndrome de Hunter e o TCTH deixou de ser realizado.

É importante lembrar que há mais de 10 anos o TCTH era limitado pela falta de doadores disponíveis, por alto percentual de falha de enxertia e altas taxas de morbidade e mortalidade. Em 2005, um estudo colaborativo internacional desenvolveu diretrizes para o TCTH em pacientes com MPS, com base na identificação de preditores de mortalidade (Boelens *et al.*, 2007). Em 2012, o regime de condicionamento baseado em bussulfan foi modificado

substituindo-se a ciclofosfamida pela fludarabina levando a uma menor toxicidade com eficácia semelhante (Bartelink *et al.*, 2014).

A implementação destas novas diretrizes resultou em taxas de sobrevida com enxertia de mais de 90%. Ao longo da última década, o sangue de cordão umbilical tem sido utilizado com frequência cada vez maior no transplante de crianças com doenças metabólicas. O sangue de cordão oferece várias vantagens quando comparado à medula óssea como fonte para o transplante, como por exemplo, tempo mais curto pela procura por doador, maior tolerância para incompatibilidades HLA, menor incidência e gravidade de doença do enxerto versus hospedeiro e menor probabilidade de transmissão de infecções virais. Estudos recentes sugerem que as maiores taxas de sobrevida livres de eventos são alcançadas em pacientes que recebem cordões compatíveis de irmãos ou cordões totalmente compatíveis (6/6) de doadores aparentados, seguido por cordões compatíveis 5/6 (ou cordões compatíveis 4/6 com altas dosagens celulares) ou com compatibilidade 10/10 de doador não aparentado. É importante ressaltar que muitos dos doadores aparentados são também portadores de mutações, o que influencia nos níveis enzimáticos pós-transplante. Níveis enzimáticos mais baixos parecem ter influência nos desfechos de longo prazo, como no desenvolvimento neurocognitivo. Pacientes com níveis enzimáticos normais em leucócitos apresentam melhores resultados como maior crescimento, menor necessidade de intervenções ortopédicas e de cuidados respiratórios (Aldenhoven *et al.*, 2015b; Boelens e van Hasselt, 2016).

Já está provado que os resultados do TCTH nas doenças metabólicas (tanto os desfechos do transplante quanto os desfechos de longo prazo) são tanto melhores quanto mais precocemente ele é realizado. Isto já foi demonstrado na MPS I, leucodistrofia metacromática, adrenoleucodistrofia ligada ao X, doença de Krabbe e provavelmente também é verdade para outras doenças metabólicas (Boelens e van Hasselt, 2016).

As altas taxas de sobrevida com enxertia observadas após o TCTH junto com a baixa toxicidade nos pacientes com MPS permitiriam a indicação do transplante para outros tipos de MPS, além da MPS I forma grave. Além disso, as bases científicas da sua eficácia permanecem as mesmas: as células do doador secretariam a enzima deficiente que seria captada por células vizinhas, corrigindo assim a deficiência enzimática subjacente.

Em relação ao SNC, o TCTH parece ser o único tratamento capaz preservar a função neurocognitiva. O TCTH parece ser benéfico já que células monocíticas/fagocíticas são capazes de cruzar a barreira hematoencefálica e se alojar no cérebro como micróglia. A micróglia derivada de células do doador seria capaz de secretar a enzima deficiente que seria captada pelos neurônios do receptor corrigindo a deficiência enzimática (Krivit *et al.*, 1995).

Araya e colaboradores demonstraram a presença de células do doador na microglia de paciente com MPS II dez meses após o transplante. Estas células foram encontradas não só nos espaços perivasculares como também no parênquima cerebral, sugerindo o potencial do TCTH de tratar os sintomas neurológicos da síndrome de Hunter (Araya *et al.*, 2009).

É consenso que os pacientes mais jovens, transplantados até 2,5 anos, são os mais beneficiados pelo TCTH. O diagnóstico precoce é fundamental para o sucesso do transplante já que muito da morbidade associada à doença não é revertida com o TCTH. Como leva alguns meses para que microglia suficiente seja substituída pelas células originárias do doador, parece haver certo atraso nos benefícios do transplante para o cérebro. Como consequência, doenças neurodegenerativas rapidamente progressivas são mais difíceis de serem tratadas com o TCTH. O transplante só ofereceria benefícios clínicos quando instituído em fases pré-sintomáticas (Boelens e van Hasselt, 2016).

Atualmente, com as altas taxas de sobrevida com enxertia e redução da toxicidade e das complicações relacionadas ao TCTH com as novas técnicas e protocolos de transplante, junto com uma correção metabólica superior quando comparada à TRE (Aldenhoven *et al.*, 2015b; Wang *et al.*, 2016), associado à seleção mais criteriosa dos pacientes, parece ser apropriado que se reconsidere o TCTH como modalidade terapêutica para a MPS II.

## 5 CAPÍTULO 2: RELATO DE CASO DE TRANSPLANTE DE CELULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS EM PACIENTE COM A FORMA NEURONOPÁTICA DA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO II

Será relatado o caso clínico de um paciente com MPS II submetido a TCTH com 70 dias de vida. O diagnóstico ainda pré-natal foi feito devido à história familiar de um irmão e um tio diagnosticados com síndrome de Hunter, ambos com a forma neuronopática da doença.

O responsável pelo paciente assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto de pesquisa cadastrado no CEP/IFF sob nº CAAE: 0074.0.008.000-11 / 14085513.0.0000.5269, denominado "Seguimento clínico das doenças de depósito lisossômico: história natural, protocolos clínicos e terapêuticos", autorizando o acesso de dados de prontuário, divulgação e uso de imagens para fins científicos

Todo o acompanhamento multidisciplinar, multiprofissional e multicêntrico ao longo de sete anos é descrito, com a apresentação de resultados de avaliações e exames complementares.

O paciente em questão foi submetido ao TCTH com 70 dias de vida. Seu diagnóstico foi feito ainda intra-útero devido à história familiar de um irmão e um tio diagnosticados com síndrome de Hunter, ambos com a forma neuronopática da doença. Atividade indetectável da I2S e a mutação R88H foram encontradas em fibroblastos do líquido amniótico. Esta mutação é uma mutação sem sentido (*missense*) que leva à troca de uma arginina por histidina no códon 88 do exon 3, já previamente relatada e associada a forma neuronopática da MPS II (Froissart *et al.*, 2007; Brusius-Facchin *et al.*, 2014; Chiong *et al.*, 2017)

O paciente nasceu com idade gestacional de 37 semanas e 2 dias através de parto cesáreo devido a parada de progressão do trabalho de parto. Seu peso de nascimento foi de 3.320g (percentil 50), comprimento de 51cm (percentil 50) e perímetro cefálico de 34cm (percentil 50) . Figura 2

Um discreto depósito lisossômico em células endoteliais e pericitos foi encontrado na análise por microscopia eletrônica da placenta (previamente relatado por Baldo *et al.*, 2011). Nova dosagem enzimática após o nascimento reconfirmou o diagnóstico de MPS II no plasma [1,2nmol/4h/ml (ref=122-463)] e em leucócitos [4,3nmol/4h/mg/ptn (ref=31-110)].



Figura 2 . Paciente no período neonatal. (A) Fenótipo clínico normal. (B) Discreta giba lombar. (C) Mão sem restrição articular

A avaliação neurológica ao nascimento mostrou hiperexcitabilidade generalizada, clônus e sinreflexia. Uma giba lombar muito discreta podia ser vista ao exame físico e o raio-X mostrava discreta irregularidade na face anterior dos corpos vertebrais de L3, L4 e L5. Ultrassonografia transfontanela e abdominal, avaliações oftalmológica e auditiva e ressonância magnética de encéfalo e coluna vertebral foram todas normais.

TRE com 0,5mg/Kg de idursulfase administrada ao longo de 3 horas através de acesso venoso periférico foi iniciada aos 10 dias de vida . Figura 3. Um total de seis infusões com intervalos semanais foram realizadas em ambiente hospitalar até o momento do transplante. O paciente não apresentou reações adversas. A TRE foi realizada na tentativa de se prevenir o depósito de GAG durante o tempo entre o nascimento e o transplante.



Figura 3 . Primeira infusão (terapia de reposição enzimática) aos 10 dias de vida

Aos 19 dias de vida o paciente apresentou febre de 39°C, obstrução nasal importante e rinorréia persistente. Foi internado com infecção de vias aéreas superiores, necessitando de 10 dias de antibioticoterapia venosa. Fez uso de ampicilina por 6 dias, gentamicina por 3 dias, cefotaxime por 3 dias e ceftriaxone por 4 dias. A TRE não foi interrompida durante a internação já que a criança não estava febril no dia programado para a infusão.

A resposta à TRE foi avaliada através da análise dos GAG urinários. O nível de uGAG aos 5 dias de vida foi de 2.000mg/g de creatinina (limite superior da normalidade: 170mg/g de creatinina). Após 6 infusões da I2S recombinante os uGAGs caíram para 1.300mg/g de creatinina.

A avaliação neuropsicológica com 1 mês e 8 dias de vida através da escala Bayley (3ª edição) mostrou escore cognitivo de 75, escore de linguagem de 74 e escore motor de 79.

O transplante com células de cordão umbilical de doador HLA não-idêntico (compatível 5/6) foi realizado com 70 dias de vida. A tipagem HLA e a busca pelo doador foram realizadas durante a gestação e a compatibilidade reconfirmada após o nascimento. O regime de condicionamento para o transplante foi realizado com bussulfam 320mg/m<sup>2</sup>, ciclofosfamida 200mg/Kg e timoglobulina 5mg/Kg. O paciente recebeu uma combinação de ciclosporina e corticóide para prevenção da doença enxerto versus hospedeiro . Figura 4.

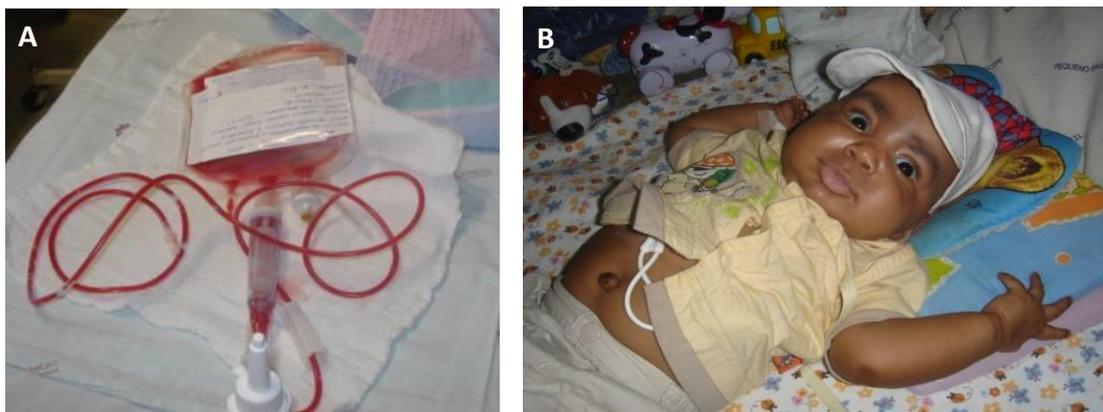


Figura 4. Células-tronco hematopoiéticas de cordão umbilical de doador não-aparentado prontas para o transplante (A). Paciente pouco depois do TCTH (B)

A enxertia após 30 dias do transplante mostrou um quimerismo misto com 79% de células do doador. Após 7 anos do transplante, o quimerismo se mantém em 80%. A atividade da I2S 30 dias pós-transplante era baixa em plasma (22nmol/4h/ml; valores de referência = 122-463) e normal em leucócitos (49nmol/4h/mg/ptn; valores de referência = 31-110); aos 270 dias, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 anos após o TCTH o mesmo padrão foi encontrado.

Quarenta e quatro dias após o TCTH o paciente apresentou febre e o rastreamento infeccioso identificou *E. coli* ESBL na hemocultura do cateter e na urinocultura. Ele foi tratado com ertapenem por 14 dias. Setenta dias após o TCTH o paciente voltou a apresentar febre e novamente *E. coli* ESBL foi isolada na hemocultura. Mais uma vez ele fez tratamento por 14 dias com ertapenem e, desta vez, o cateter Hickman foi retirado com posterior colocação de um cateter totalmente implantado.

Com 75 dias pós-transplante, exames laboratoriais de rotina revelaram anticorpos positivos para citomegalovírus. O paciente estava assintomático, sem febre e apresentava boas condições clínicas. Foi iniciado ganciclovir 10mg/Kg/dia. Durante o tratamento com ganciclovir o paciente necessitou de algumas infusões G-CSF devido à leucopenia.

Com 110 dias pós-transplante o paciente apresentou mais uma vez episódio febril e hemocultura positiva, desta vez para *Staphylococcus coagulase* negativa. Ele foi tratado com cefepime por 10 dias.

Os GAG urinários começaram a baixar durante a TRE e alcançaram níveis normais 3 meses após o TCTH. No momento, os níveis dos uGAG encontram-se dentro da faixa da normalidade. Figura 5.

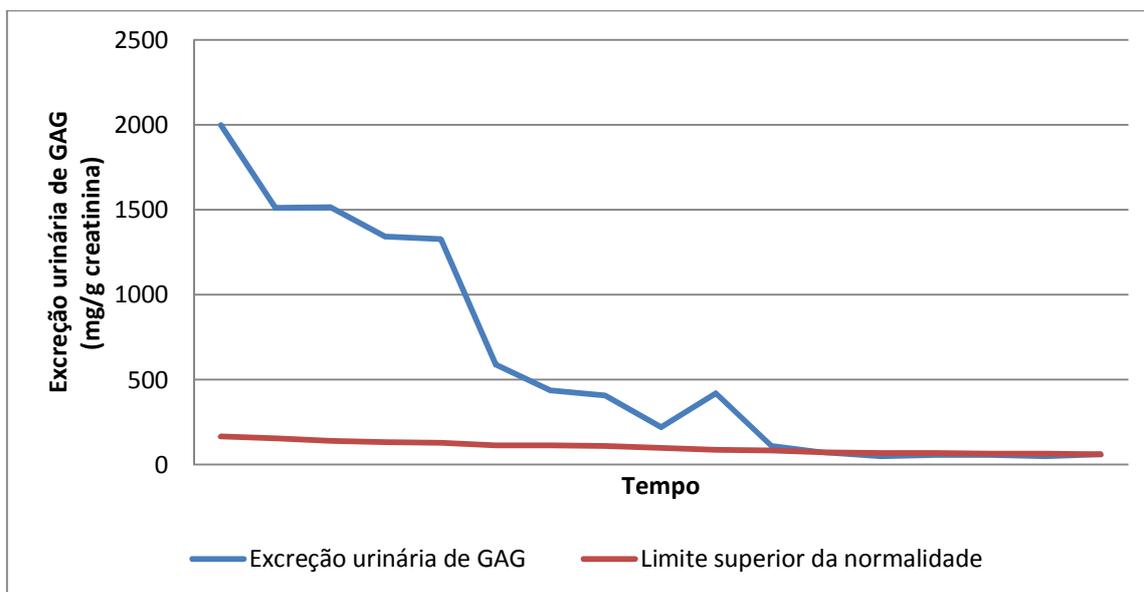


Figura 5 . Excreção urinária de GAG desde o nascimento até os 7 anos de idade.

Os marcos motores do desenvolvimento foram todos normais. Ele sustentou a cabeça com 2 meses, sentou sem apoio com 5 meses, engatinhou com 7 meses e andou com 12 meses. É importante ressaltar que todos os marcos motores foram alcançados mais cedo quando comparado ao irmão mais velho, diagnosticado aos 4 anos e que iniciou TRE aos 6 e ao tio, diagnosticado com 8 anos e que nunca recebeu TRE. Sua avaliação motora mais recente, aos 7 anos, mostra tônus muscular, força e mobilidade dentro da normalidade.

O desenvolvimento da fala, entretanto, foi atrasado. Potencial evocado auditivo realizado aos 5 anos mostrou limiar de desaparecimento da onda V de 80dB na orelha direita e 70dB na orelha esquerda, resultados compatíveis com perda auditiva moderada. O paciente começou a usar próteses auditivas e passou a falar frases curtas pouco depois.

A criança sempre foi hiperativa e com 3 anos de idade demonstrava comportamento agressivo. Apesar de ter apresentado melhora após a introdução do aparelho auditivo, com diminuição da agressividade, ele ainda apresenta sinais de hiperatividade.

Aos 7 anos, sua curva de crescimento é normal; pesa 39Kg (percentil 90), mede 129cm (percentil 90) e seu perímetro cefálico é de 53cm (percentil 75). O

desenvolvimento motor é normal, não apresenta alterações esqueléticas, contraturas articulares ou mãos em garra. Ele nunca apresentou fácies grosseiro, opacidade de córnea ou hepatoesplenomegalia. Seu exame físico revela apenas mãos pequenas com dedos curtos, em concordância com relatos da literatura sobre pacientes transplantados com a forma neuronopática (Souillet *et al.*, 2003) . Figura 6.

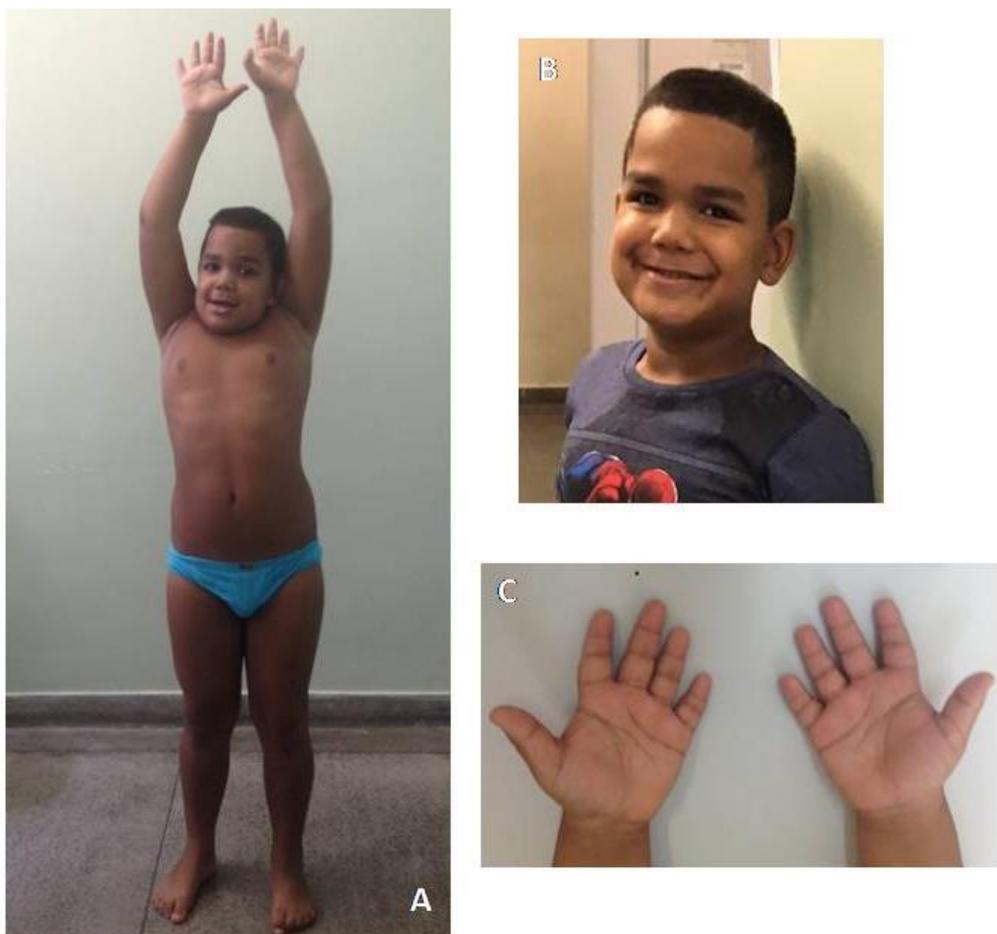


Figura 6. Paciente aos 7 anos de idade sem restrição articular (A), fenótipo normal (B) e sem mãos em garra (C)

Suas avaliações clínicas mais recentes realizadas aos 7 anos mostram tomografia computadorizada de crânio e nasolaringofaringoscopia normais. Ecocardiograma revela função cardíaca normal, sem sinais de disfunção valvar. A RM de encéfalo mostra leve hipoplasia cerebelar, conforme demonstrado no primeiro exame realizado no período neonatal, e que pode corresponder a uma variante da normalidade. A RM da coluna vertebral é normal e a radiografia de esqueleto mostra sinais muito leves de disostose múltipla . Figura 7.

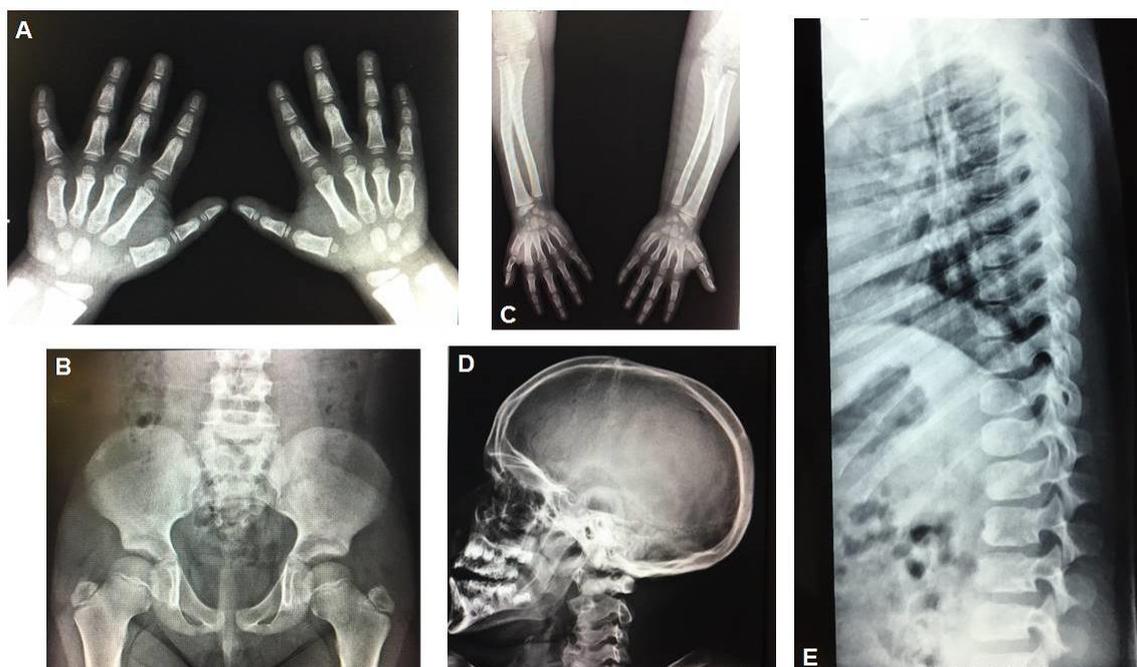


Figura 7. Disostose múltipla leve em paciente de MPS II transplantado. Mãos (A): metacarpos curtos com encontro de epífises e hipoplasia dos ossos carpo. Pelve (B): asas do íliaco arredondadas e estreitamento inferior. Ossos longos (C): defeito de modelagem com encurtamento diafisário. Crânio (D): espessamento da calvária. Coluna (E): platisspondilia e projeção anterior e inferior nos corpos vertebrais da coluna lombar

Os potenciais evocados somatossensitivos dos membros superiores mostram ondas N20 corticais com latências normais após estímulo dos nervos ulnares. Os potenciais evocados somatossensitivos dos membros inferiores mostram ondas P37 corticais com latências prolongadas e tempo de condução central prolongado após estímulo dos nervos tibiais posteriores aos 6 anos e meio. Os achados neurofisiológicos denotam comprometimento da condução sensitiva nas colunas posteriores da medula. Tais achados são compatíveis com as alterações somatossensitivas encontradas nos pacientes com MPS, apesar

de no seu caso os achados serem mais leves do que os encontrados em pacientes não transplantados (Silva *et al.*, 2014).

A avaliação neuropsicológica com 1 ano e 11 meses, 20 meses após o TCTH, realizada através da escala Bayley III mostrou um escore cognitivo de 90, um escore de linguagem de 74 e um escore motor de 94. Aos 4 anos e 3 meses e 6 anos e 1 mês, seu quociente de inteligência (QI) avaliado através da escala Wechsler de inteligência para os níveis pré-escolar e primário, 3ª edição (WPPSI-III) foi de 57 e 50, respectivamente. Em sua última avaliação neuropsicológica com 7 anos e 2 meses usando-se a escala Wechsler de inteligência para crianças, 4ª edição (WISC-IV) seu QI foi de 47, sendo a memória operacional e a compreensão verbal suas piores pontuações.

## 5.1 Discussão

O paciente aqui descrito é um dos mais jovens a ter recebido o transplante para o tratamento da MPS II, forma neuronopática.

Como a TRE melhora as condições pré-transplante do paciente (melhorando a função respiratória e cardíaca), é bem tolerada e não influencia negativamente a enxertia, optamos por iniciar a TRE antes do TCTH (de Ru *et al.*, 2011). A idéia inicial era continuar a TRE após o transplante até que os níveis enzimáticos atingissem valores normais e que o paciente apresentasse boa enxertia. No entanto, como o paciente foi transplantado em outro estado, a TRE foi interrompida antes da viagem da família para o local do transplante.

Dados da literatura mostram que os pacientes com MPS I têm maiores benefícios em termos auditivos com o transplante do que com a TRE (Papsin *et al.*, 1998; Souillet *et al.*, 2003). Devido ao pequeno número de pacientes com MPS II submetidos ao TCTH, é difícil se chegar a qualquer conclusão significativa em relação à melhoria da audição nesta população. De acordo com da Costa e colaboradores, o TCTH realizado precocemente (<25 meses) em pacientes com MPS II teria correlação com melhora na audição (da Costa *et al.*, 2012). Apesar de realizado precocemente, o TCTH não foi capaz de prevenir a perda auditiva neurossensorial no nosso paciente. Entretanto, devido ao seu comportamento hiperativo, não foi possível realizar uma avaliação audiológica completa, além do potencial evocado auditivo, e assim o componente condutivo

da audição não pode ser avaliado. Apesar disso, ele nunca apresentou nenhum episódio de otite média, que sabidamente ocorre em 92% dos pacientes com MPS II e é um dos principais contribuintes para a perda auditiva condutiva (Holt *et al.*, 2011).

A infecção por CMV após o transplante, apesar do paciente não ter tido sintomas clínicos, e sim somente antigenemia positiva, assim como as medicações utilizadas antes e depois do TCTH, podem ter contribuído para a perda auditiva e confundido nossos dados. O ganciclovir e a gentamicina utilizados pelo paciente são drogas sabidamente ototóxicas (Cianfrone *et al.*, 2011).

Em relação às avaliações neuropsicológicas, a baixa pontuação apresentada na escala cognitiva na primeira avaliação aos 38 dias de vida pode ter sido influenciada pelo tempo que o paciente ficou internado, aos 19 dias de vida por infecção das vias aéreas. Depois, na segunda avaliação, seu escore cognitivo melhorou. É importante mencionar que a escala Bayley não é preditiva em relação ao desempenho da criança já que o desenvolvimento humano é um processo complexo e dinâmico.

Infelizmente três escalas de avaliação diferentes tiveram que ser usadas na avaliação do QD/QI devido à limitação de idade das escalas. Além disso, essas escalas estão somente traduzidas para o português e não foram validadas para população brasileira e por isso, vieses culturais e sócio-econômicos podem ter contribuído para o baixo desempenho. Outro ponto desfavorável nas avaliações neuropsicológicas foi a utilização da escala WISC, uma avaliação fortemente baseada na linguagem verbal, que pode ter sido influenciada negativamente pelo déficit auditivo do paciente e ter resultado no mau desempenho encontrado. É importante ressaltar, no entanto, que o paciente nunca teve acompanhamento de fisioterapia, terapia ocupacional ou fonoaudiologia, embora tenha sido sempre recomendado. A realização de tais terapias poderia ter contribuído para um melhor desempenho nos testes cognitivos.

A literatura mostra que os pacientes com a forma neuronopática da síndrome de Hunter têm ganhos na função cognitiva até aproximadamente 48 a 55 meses de idade e a partir de então evoluem com neurodegeneração progressiva (Holt *et al.*, 2011). O paciente vem mantendo um QI relativamente

estável, segunda as avaliações neuropsicológicas, o que significa que ele vem apresentando ganhos numa velocidade próxima do normal. De fato, ele é uma criança bastante funcional, que frequenta escola regular (apesar de um pouco atrasado para a idade cronológica), pratica esportes, se alimenta, se veste e toma banho sozinho.

Na seção de funcionalidade do questionário de avaliação PEDI, ele pontuou 156 de um total de 197, o que mostra seu bom desempenho funcional ou pelo menos muito melhor do que o esperado para um menino da sua idade com a forma neuronopática da MPS II. Também foram avaliadas as atividades de vida diária através da aplicação de um questionário específico para pacientes com MPS II desenvolvido por Tanjuakio (Tanjuakio *et al.*, 2015). Neste instrumento, ele obteve uma pontuação de 43 de um total de 60 pontos, uma das maiores pontuações para pacientes com a forma neuronopática da MPS II.

Quando comparado aos outros membros afetados da família (um irmão mais velho falecido aos 12 anos, que iniciou TRE aos 6 anos e um tio falecido aos 20 anos, gravemente comprometido, diagnosticado aos 8 anos e que nunca realizou TRE) ele está muito melhor, tanto em termos físicos quanto cognitivos. A Tabela 5 e a Figura 8 mostram as diferenças no desenvolvimento e no fenótipo entre o propósito e os outros membros afetados da família.

Tabela 5: Informações comparativas entre os membros afetados da família sobre marcos do desenvolvimento motor e cognitivo.

	<b>Proposito</b>	<b>Irmão mais velho (falecido aos 12 anos)</b>	<b>Tio (falecido aos 20 anos)</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>Pré-natal</b>	<b>4 anos</b>	<b>8 anos</b>
<b>TRE/TCTH</b>	<b>6 infusões de TRE seguidas por TCTH</b>	<b>Iniciou TRE aos 6 anos</b>	<b>Nunca realizou TRE</b>
<b>Sustentou a cabeça</b>	2 meses	4-5 meses	6 meses
<b>Sentou sem apoio</b>	5 meses	8-9 meses	9 meses
<b>Baluciou</b>	5-6 meses	Após 1 ano	1 ano e 6 meses
<b>Engatinhou</b>	7 meses	10 meses	1 ano
<b>Andou sem apoio</b>	1 ano	1 ano e 1 mês	1 ano e 8 meses
<b>Controle esfíncteriano</b>	4 anos	Nunca	Nunca
<b>Comeu sozinho</b>	3 anos	Nunca	Nunca
<b>Tomou banho sozinho</b>	5 anos	Nunca	Nunca
<b>Ler / Escrever</b>	Sendo alfabetizado	Nunca	Nunca
<b>Hidrocefalia / DVP</b>	Nunca	4 anos	8 meses
<b>Parou de andar</b>	---	10 anos	10 anos

DVP: derivação ventrículo-peritoneal



Figura 8 . Fenótipo clínico do paciente (A), irmão mais velho (B) e tio (C) aos 6 anos de idade. Paciente aos 4 anos e irmão mais velho aos 12 anos (D). Paciente aos 7 anos e tio aos 20 anos (E)

O paciente continua sendo acompanhado periodicamente. Este é um caso importante que ilustra que o TCTH é capaz de trazer benefícios para pacientes com MPS II quando realizado precocemente, antes da instalação dos sintomas neurológicos da doença.

## 6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A TRE com a idursulfase alfa recombinante é atualmente o tratamento recomendado para a MPS II. Entretanto, como não ultrapassa a BHE, os resultados desta modalidade terapêutica são limitados na forma neuronopática da doença.

Apesar dos ótimos resultados alcançados na MPS I, o TCTH não é usualmente indicado na MPS II. A revisão da literatura científica revelou falta de critérios de seleção dos pacientes que receberam o TCTH. A maioria tinha idade avançada e já apresentava sinais de comprometimento neurológico no momento do transplante. Além da grande variabilidade na idade dos pacientes, os diferentes regimes de condicionamento e fonte de células utilizados no transplante, e os variados parâmetros de acompanhamento e desfechos de interesse, podem ter contribuído para a indefinição sobre resultados do TCTH.

A falta de benefícios convincentes sobre os resultados do TCTH associada aos riscos envolvidos no transplante até alguns anos atrás, provavelmente, fizeram com que o esse tratamento deixasse de ser indicado para a MPS II.

Após 2005, com a elaboração dos protocolos e diretrizes de transplante para as MPS, juntamente com a criação de registros de doadores de medula óssea e bancos de cordão umbilical, o TCTH tornou-se mais acessível e seguro. As taxas de sobrevida com enxertia hoje chegam a mais de 90%, permitindo a indicação do TCTH para outros tipos de MPS, além da forma grave da MPS I. Nos últimos anos, grupos na China e no Japão voltaram a utilizar o TCTH como tratamento para a MPS II, obtendo alguns bons resultados (Tanjuakio *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016; Kubaski *et al.*, 2017).

O caso aqui relatado mostrou o desfecho neurológico favorável com o TCTH precoce na forma neuronopática da MPS II. É consenso que os pacientes mais jovens são os mais beneficiados pelo TCTH. Assim, o diagnóstico precoce é fundamental para o sucesso do transplante já que muito da morbidade associada à doença não é revertida com o TCTH. Como leva alguns meses para que a microglia seja substituída pelas células originárias do doador, parece haver certo atraso nos benefícios do transplante para o cérebro. Portanto, o transplante só oferece benefícios clínicos quando instituído em fases pré-sintomáticas, mas pode ser tão eficaz para a MPS II quanto é para a MPS I quando o paciente é

transplantado antes do aparecimento dos sintomas neurológicos (Araya *et al.*, 2009).

Além de não proporcionar benefícios em termos cognitivos para os pacientes com a forma neuronopática da MPS II, a TRE tem o potencial de desencadear a produção de anticorpos contra a enzima exógena recombinante, o que levaria a diminuição importante da eficácia sobre os sinais e sintomas somáticos da doença.

Em termos de saúde pública, o TCTH pode ser uma opção bastante interessante. Além de um efeito potencialmente mais favorável na evolução da doença, haveria ganho em termos de qualidade de vida para os pacientes e seus familiares que não necessitariam comparecer a um hospital/centro de infusão semanalmente para receberem TRE ao longo de 3-4 horas durante toda a vida.

Além disso, o custo total da TRE por toda a vida, em torno de R\$535.000,00 por ano, para um paciente de 25Kg (comunicação pessoal Regina Próspero, vice-presidente do Instituto Vidas Raras), é muito maior do que o do TCTH que é um procedimento, geralmente, realizado uma única vez.

## 7 CONCLUSÃO

Após pouco mais de uma década de experiência, os benefícios e as limitações da TRE para a MPS II tornaram-se conhecidos. A reposição enzimática por via IV é capaz de proporcionar benefícios para alguns dos sinais e sintomas somáticos da doença, mas como não ultrapassa a BHE, é incapaz de melhorar ou mesmo frear os sintomas neurológicos e a neurodegeneração que ocorrem nos pacientes com a forma neuronopática da doença.

A experiência clínica com o TCTH na MPS II é pequena; poucos transplantes foram realizados até hoje. Principalmente após o advento da TRE, o TCTH deixou de ser indicado como modalidade terapêutica devido às altas taxas de morbidade e mortalidade historicamente relacionadas ao procedimento.

Após a elaboração de protocolos e diretrizes de transplante e a criação de registros de doadores de medula óssea e bancos de cordão umbilical, o TCTH tornou-se mais seguro e acessível. Com isso, parece ser apropriado que se reconsidere o TCTH como tratamento para a forma neuronopática da MPS II, uma vez que ele é o único tratamento atualmente disponível potencialmente capaz de proporcionar benefícios em termos neurológicos quando critérios rígidos de seleção são respeitados.

## 8 BIBLIOGRAFIA

Aldenhoven M, Boelens JJ, Van Eijk M, *et al.* The clinical outcome of Hurler syndrome after stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transpl*; 14: 485-98, 2008

Aldenhoven M, Wynn RF, Orchard PJ, *et al.* Long-term outcome of Hurler syndrome patients after hematopoietic cell transplantation: an international multicenter study. *Blood*; 125: 2164-72, 2015a

Aldenhoven M, Jones SA, Bonney D, *et al.* Hematopoietic cell transplantation for mucopolysaccharidosis patients is safe and effective: results after implementation of international guidelines. *Biol Blood Marrow Transplant*; 21: 1106-9, 2015b

Annibali R, Caponi L, Morganti A, *et al.* Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis type II), severe phenotype: long term follow-up on patients undergone to hematopoietic stem cell transplantation. *Minerva Pediatr*; 65: 487-96, 2013

Araya K, Sakai N, Mohri I, *et al.* Localized donor cells in brain of a Hunter disease patient after cord blood stem cell transplantation. *Mol Genet Metab*; 98: 255-63, 2009

Baldo G, Matte U, Artigalás O, *et al.* Placenta analysis of prenatally diagnosed patients reveals early GAG storage in mucopolysaccharidoses II and VI. *Mol Genet Metab*; 103: 197-8, 2011

Barriga F, Ramírez P, Wietstruck A, *et al.* Hematopoietic stem cell transplantation: clinical use and perspectives. *Biol Res* 45: 307-316, 2012

Bartelink IH, Van Reij EM, Gerhardt CE, *et al.* Fludarabine and exposure-targeted busulfan compares favorably with busulfan cyclophosphamide-based regimens in pediatric hematopoietic cell transplantation: maintaining efficacy with less toxicity. *Biol Blood Marrow Transplant*; 20: 345-53, 2014

Bergstrom SK, Quinn JJ, Greenstein R, *et al.* Long-term follow-up of a patient transplanted for Hunter's disease type IIB: a case report and literature review. *Bone Marrow Transplant*; 14: 653-8, 1994

Boelens JJ, Wynn RF, O'neara A, *et al.* Outcomes of hematopoietic stem cell transplantation for Hurler's syndrome in Europe: a risk factor analysis for graft failure. *Bone Marrow Transplant*; 40: 225-33, 2007

Boelens JJ, Prasad VK; Tolar J, *et al.* Current international perspectives on hematopoietic stem cell transplantation for inherited metabolic disease. *Pediatr Clin N Am*; 57: 123-45, 2010

- Boelens JJ; Orchard PJ; Wynn R. Transplantation in inborn errors of metabolism: current considerations and future perspectives. *Br J Haematol*; 167: 293-303, 2014
- Boelens JJ; van Hasselt PM. Neurodevelopmental outcome after hematopoietic stem cell transplantation in inborn errors of metabolism: current considerations and future perspectives. *Neuropediatr*; 47: 285-92, 2016
- Brady RO, Pentchev PG, Gal AE, *et al.* Replacement therapy for inherited enzyme deficiency: use of purified glucocerebrosidase in Gaucher's disease. *N Engl J Med*; 291: 989-93, 1974
- Brante G. Gargoylism; a mucopolysaccharidosis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 4, 43. 6, 1952
- Brusius-Facchin AC, Schwartz IVD, Zimmer C, *et al.* Mucopolysaccharidosis type II: Identification of 30 novel mutation among Latin American patients. *Mol Genet Metab*; 111: 133-8, 2014
- Cagle S. Clinical outcomes and biochemical data following hematopoietic stem cell transplantation in a patient with Hunter syndrome. *Mol Genet Metab*; 114: S28, 2015
- Calias P, Papisov, Pan J, *et al.* CNS Penetration of Intrathecal-Lumbar Idursulfase in the Monkey, Dog and Mouse: Implications for Neurological Outcomes of Lysosomal Storage Disorder. *PLoS One*; 7: e30341, 2012
- Chiong MAD, Canson DM, Abacan MA, *et al.* Clinical, biochemical and molecular characteristics of Filipino patients with mucopolysaccharidosis type II . Hunter syndrome. *Orphanet J Rare Dis*; 12: 7, 2017
- Cianfrone G, Pentangelo D, Cianfrone F, *et al.* Pharmacological drugs inducing ototoxicity, vestibular symptoms and tinnitus: a reasoned and updated guide. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*; 15: 601-36, 2011
- Clarke LA, Hollak CE. The clinical spectrum and pathophysiology of skeletal complications in lysosomal storage disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*; 29: 219-35, 2015
- Cockayne EA. Gargoylism (Chondro-osteo-dystrophy, Hepatosplenomegaly, Deafness) in Two Brothers *Proc R Soc Med*; 30:104-7, 1936
- Coppa GV, Gabrielli O, Zampini L, *et al.* Bone marrow transplantation in Hunter syndrome (mucopolysaccharidosis type II): two-year follow-up of the first Italian patient and review of the literature. *Pediatr Med Chir*; 17: 227-35, 1995
- Coppa GV, Gabrielli O, Cordiali R, *et al.* Bone marrow transplantation in a Hunter patient with P266H mutation. *Int J Mol Med*; 4: 433-6, 1999

Coutinho MF, Lacerda L, Alves, S. Glycosaminoglycan storage disorders: a review. *Biochem Res Int*; 2012: 471325, 2012

da Costa V, O'Grady G, Jackson L, et al. Improvements in sensorineural hearing loss after cord blood transplant in patients with mucopolysaccharidosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*; 138:1071-6, 2012

de Duve C. From cytochromes to lysosomes. *Fed Proc*; 23: 1045. 9, 1964

de Ru MH, Boelens JJ, Das AM, Jones SA, et al. Enzyme replacement therapy and/or hematopoietic stem cell transplantation at diagnosis in patients with mucopolysaccharidosis type I: results of a European consensus procedure. *Orphanet J Rare Dis*; 6:55, 2011

Desnick JR. Enzyme replacement and enhancement therapies for lysosomal diseases. *J Inher Metab Dis*; 27: 385-410, 2004

Dickson P, McEntee M, Vogler C, et al. Intrathecal enzyme replacement therapy: successful treatment of brain disease via the cerebrospinal fluid. *Mol Genet Metab*; 91: 61-8, 2007

Dickson P, Hanson S, McEntee MF, et al. Early versus late treatment of spinal cord compression with long-term intrathecal enzyme replacement therapy in canine mucopolysaccharidosis type I. *Mol Genet Metab*; 101: 115-22, 2010

Engel D. Dysostosis multiplex: Pfaundler. Hurler syndrome. *Arch. Dis. Child.* 14, 217. 30, 1939

Escolar ML, Poe MD, Prasad V, et al. Neurodevelopmental outcomes of children with MPS II after unrelated umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.*, 13: 63, 2007

Escolar M, Poe M, Rajan D et al. Longterm outcomes of patients receiving umbilical blood stem cell transplantation for MPS II. *Mol Genet Metab.*; 108: S37, 2012

Evidence-based Medicine Workgroup. Evidence-Based Medicine. *J.A.M.A.*; 268: 2420-5, 1992

Fletcher RH, Fletcher SW. *Epidemiologia Clínica Elementos Essenciais*. Porto Alegre: Artmed, 2006

Fratantoni, J.C., Hall, C.W., Neufeld, E.F. Hurler and Hunter syndromes: mutual correction of the defects in cultured fibroblasts. *Science*, 162: 570-2, 1968

Fratantoni JC, Hall CW, Neufeld EF. The defect in Hurler and Hunter syndromes II: Deficiency of specific factors involved in mucopolysaccharide degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 64:360-6, 1969

Froissart R, da Silva IM, Maire I. Mucopolysaccharidosis type II: an update on mutation spectrum. *Acta Paediatr*; 96: 71-7, 2007

Galvão TF e Pereira MG. Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração. *Epidemiol. Serv. Saúde*; 23: 183-4, 2014

Giugliani R, Federhen A, Muñoz Rojas MV, et al. Terapia de reposição enzimática para as mucopolissacaridoses I, II e VI: recomendações de um grupo de especialistas brasileiros. *Rev. Assoc Med Bras*; 56: 257-77, 2010

Giugliani R, Federhen A, Vairo F, et al. Emerging drugs for the treatment of mucopolysaccharidoses *Expert Opin Emerg Drugs*; 21: 9-26, 2016

Gosh A, Miller W, Orchard PJ, et al. Enzyme replacement therapy prior to hemetopoietic stem cell transplantation in Mucopolysaccharidosis Type I: 10 year combined experience of 2 centers. *Mol Gent Metab*; 117:373-7, 2016

Guffon N, Bertrand Y, Forest I, et al. Bone marrow transplantation in children with hunter syndrome: outcome after 7 to 17 years. *J Pediatr*; 154: 733-7, 2009

Harris RC. Mucopolysaccharide disorder: a possible new genotype of Hurler's syndrome. *Am. J. Dis. Child.* 102, 741, 1961

Harris RE, Leslie JC, Saunders JA, et al. Bone Marrow transplantation for Hunter syndrome. In: Hobbs JR, Riches PG (Eds), *Correction of certain genetic diseases by transplantation 1991.*, London, COGENT Trust, 1992: 23

Hemsley KM, Luck AJ, Crawley AC, et al. Examination of intravenous and intra-CSF protein delivery for treatment of neurological disease. *Europ J Neuroscience*; 29: 1197-214, 2009

Henderson JL. Gargoylism: A Review of the Principal Features with a Report of Five Cases. *Arch Dis Child.*;15 (84): 201-14, 1940

Hobbs JR, Hugh-Jones K, Barrett AJ, et al. Reversal of clinical features of Hurler's disease and biochemical improvement after treatment by bone marrow transplantation. *The Lancet* 8249: 709-12, 1981

Hobbs JR, Hug-Jones K, Chambers JD, et al. Lysosomal enzyme replacement therapy by displacement bone marrow transplantation with immune prophylaxis. *Adv Clin Enzymol*; 3: 184, 1986

Hollak CEM e Wijburg FA. Treatment of lysosomal storage disorders: successes and challenges. *J Inherit Metab Dis*; 37: 587-98, 2014

Holt JB, Poe MD, Escolar ML. Natural progression of neurological disease in mucopolisaccharidosis type II. *Pediatrics*; 127: e1258-1265, 2011

Hoogerbrugge PM, Brouwer OF, Bordigoni P, et al. Allogenic bone marrow transplantation for lysosomal storage diseases. *The Lancet*; 345: 1398-402, 1995

Hug G, Thompson J, Chuck G, et al. Bone marrow transplantation of Hunter disease: biochemical findings and changes in abnormal lysosomes of liver and skin. 3<sup>rd</sup> Intern Symposium on Mucopolysaccharidoses and Related Diseases, Essen, May 28-31, 1993 (abst).

Hug-Jones K, Hobbs JR, Chambers D, et al. Bone marrow transplantation in mucopolysaccharidoses. In: Molecular basis of lysosomal storage disorders. Baranger JA, Brady RO (eds). Academic Press Inc, London, 411-28, 1984

Hunter, C. A rare disease in two brothers. Proc. R. Soc. Med. 10, 104. 16, 1917

Imaizumi M, Gushi K, Kurobane I, et al. Long-term effects of bone marrow transplantation for inborn errors of metabolism: a study of four patients with lysosomal storage diseases. Acta Ped Japon; 36: 30-6, 1994

Ito K, Ochiai T, Suzuki H, et al. The effect of haematopoietic stem cell transplant on papules with 'pebbly' appearance in Hunter's syndrome. Br J Dermatol, 151: 207-11, 2004

Jones SA, Breen C, Heap F, et al. A phase 1/2 study of intrathecal heparan-N-sulfatase in patients with mucopolysaccharidosis IIIA. Mol Genet Metab.; 118:198-205, 2016

Kakkis ED. Enzyme replacement therapy for the mucopolysaccharide storage disorders. Expert Opin Investig Drug; 11: 675-85, 2002

Kakkis E, Mc Entee M, Vogler C, et al. Intrathecal enzyme replacement therapy reduces lysosomal storage in the brain and meninges of the canine model of MPS I. Mol Genet Metab; 83:163-74, 2004

Kassim AA, Chinratanalab W, Ferrara JLM, et al. Reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute leukemias: what is the best recipe? Bone Marrow Transplant 36: 565. 74, 2005

Koskenoja, M., Suvanto, E. Gargoylism: report of adult form with glaucoma in two sisters. Acta Ophthalmol. 37, 234. 40, 1959

Krivit W, Whitley CB, Chang P, et al. Lysosomal storage diseases treated by bone marrow transplantation. In: Gale RP, Chaplin R, eds. Bone marrow transplantation: Current controversies, New York: Alan R Liss, 1989; 367-78

Krivit W e Shapiro EG. Bone marrow transplantation for lysosomal storage diseases. In: Treatment of genetic diseases. Desnick RJ (ed). New York, Churchill-Livingstone, 1991: 203-21

Krivit W, Sung JH, Shapiro EG, et al. Microglia: the effector cell for reconstitution of the central nervous system following bone marrow transplantation for lysosomal and peroxisomal storage diseases. Cell Transplant. 4:385. 92, 1995

Krivit W. Allogenic stem cell transplantation for the treatment of lysosomal and peroxisomal metabolic diseases. Springer Seminars in Immunopathol; 26: 119-32, 2004

Kubaski F, Suzuki Y, Yabe H et al. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with mucopolysaccharidosis type II. Mol Genet Metab.; 120: S77; 2017

Lampe C, Bosserhoff AK, Burton BK, et al. Long-term experience with enzyme replacement therapy (ERT) in MPS II patients with a severe phenotype: an international case series. J Inherit Metab Dis, 37:823-9, 2014.

Langereis EJ, Borgo A, Crushell E, et al. Treatment for hip dysplasia in patients with mucopolysaccharidosis type I after hematopoietic stem cell transplantation: results of an international consensus procedure. Orphanet J Rare Dis; 8:155, 2013

Leistner S, Giugliani R. A useful routine for the biochemical detection and diagnosis of mucopolysaccharidoses. Genet Molec Biol; 21:163-7, 1998

Li P, Thompson JN, Hug P, et al. Biochemical and molecular analysis in a patient with the severe form of Hunter syndrome after bone marrow transplantation. Am J Med Genet; 64: 531-5, 1996

Maroteaux P, Leveque B, Marie J, Lamy M. Une nouvelle dysostose avec elimination urinaire de chondroïtine-sulfate B. Presse Med. 71, 1849. 52, 1963

Martin R, Beck M, Eng C, et al. Recognition and diagnosis of mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome). Pediatrics; 121: 377-86, 2008

McKinnes EJ, Sulzbacher S, Rutledge JC, et al. Bone marrow transplantation in Hunter syndrome. J Pediatr; 129: 145-8, 1996

Miniero R, Busca A, Vassallo E, et al. Use of G-CSF in a patient with Hunter syndrome receiving bone marrow transplantation. Am J Hematol; 47: 59-60, 1994

Muenzer J, Wraith JE, Beck M, et al. A phase II/III clinical study of enzyme replacement therapy with idursulfase in mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome). Genet Med; 8: 465-73, 2006.

Muenzer J, Wraith JE, Clarke LA, et al. Mucopolysaccharidosis I: Management and Treatment Guidelines. Pediatr, 123:19-29, 2009a

Muenzer J, Beck M, Eng CM, et al. Multidisciplinary management of Hunter syndrome. Pediatrics, 124:1228-39, 2009b

Muenzer J, Beck M, Eng CM, et al. Long-term, open-labeled extension study of idursulfase in the treatment of Hunter syndrome. Genet Med; 13: 95-101, 2011

Muenzer J, Bodamer O, Burton B, et al. The role of enzyme replacement therapy in severe Hunter syndrome . an expert panel consensus. *Eur J Pediatr*, 171: 181-8, 2012

Muenzer J, Hendriksz CJ, Fan Z, et al. A phase I/II study of intrathecal idursulfase-IT in children with severe mucopolysaccharidosis II. *Genet Med*, 18: 73-81, 2016

Muenzer J, Jones SA, Tytki-Szymanska A, et al. Ten years of the Hunter Outcome Survey (HOS): insights, achievements, and lessons learned from a global patient registry. *Orphanet J Rare Dis.*;12:82-90, 2017

Mullen CA, Thompson JN, Richard LA, et al. Unrelated umbilical cord blood transplantation in infancy for mucopolysaccharidosis type IIB (Hunter syndrome) complicated by autoimmune hemolytic anemia. *Bone Marrow Transplant*; 25: 1093-7, 2000

Muschol NM, Köhn AF, Ulrich K, et al. Clinical outcome after hematopoietic stem cell transplantation in two patients with Hunter syndrome. *Mol Genet Metab.*; 117: S84; 2016

Nestrasil I, Shapiro E, Svatkova A, et al. Intrathecal enzyme replacement therapy reverses cognitive decline in mucopolysaccharidosis type. *Am J Med Genet A.*;173:780-783, 2017

Neufeld EF, Muenzer J. The mucopolysaccharidosis. In: SCRIVER C, et al. *The metabolic and molecular bases of inherited diseases*, 8<sup>th</sup> edition vol. 3. New York: McGraw-Hill, 2001. p. 3421-52

Norman, R.M., Urich, H., Rance, N.E. Perivascular cavitation of the basal ganglia in gargoylism. *J. Ment. Sci.* 195, 1970. 7, 1959

Ochiai T, Ito K, Schichino H, et al. Ultrastructural findings of cutaneous nerves in patients with Hunter's syndrome following hematopoietic stem cell transplant. *Med Mol Morphol*; 38: 118-22, 2005

Papsin BC, Vellodi A, Bailey CM, et al Otologic and laryngologic manifestations of mucopolysaccharidosis after bone marrow transplantation. *Otolaryngol Head Neck Surg*; 118: 30-6, 1998

Pastores GM, Arn P, Beck M, et al. The MPS I Registry: design, methodology, and early findings of a global disease registry for monitoring patients with mucopolysaccharidosis type I. *Mol Genet Metab*; 91: 37-47, 2007

Patel P, Suzuki Y, Tanaka A, et al. Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell therapy on growth in patients with Hunter syndrome. *Mol Genet Metab Rep*; 1: 184-96, 2014

Persyk A, Rutledge JC, Saunders, et al. Bone marrow transplantation for Hunter syndrome (MPS II): evidence for selective histologic improvement one year post

transplant. 5<sup>th</sup> Intern Congress of Inborn Errors of Metabolism, June 1-5, 1990: 80 (abst)

Peters C e Steward CG. Hematopoietic cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcome and practice guidelines. *Bone Marrow Transpl*; 31: 229-39, 2003

Poe M, Escolar M, Kurtzberb J et al. MPS II: developmental outcomes after hematopoietic stem cell transplantation. *Mol Genet Metab.*; 102: S36, 2011

Poe MD, Chagnon SL, Escolar ML. Early treatment is associated with improved cognition in Hurler syndrome. *Ann Neurol*; 76: 747-53, 2014

Prasad VK, Mendizabal A, Parikh SH, Szabolcs P, et al. Unrelated donor umbilical cord blood transplantation for inherited metabolic disorders in 159 pediatric patients from a single center: influence of cellular composition of the graft on transplantation outcomes. *Blood*; 112: 2979-89, 2008

Prasad VK e Kurtzberg J. Transplant outcomes in mucopolysaccharidoses. *Sem Hematol*; 47:59-69, 2010

Sackett DL, Haynes RB, Guyatt GH, Tugwell P. *Clinical Epidemiology: a basic science for clinical medicine*. Boston/Toronto/London: Little, Brown and Company; 1992

Sanfilippo SJ, Podosin R, Langer L, et al. Mental retardation associated with acid mucopolysacchariduria (heparitin sulfate type). *J. Pediatr.* 63, 837. 8, 1963

Scheie, H.G., Hambrick JR., G.W., Barness, L.A. A newly recognized forme fruste of Hurler's disease (gargoylism). *Am. J. Ophthalmol.* 53, 753. 69, 1962

Scott CR, Sanders J, Sulzbacher SI, et al. Bone marrow transplantation (BMT) for genetic storage diseases: efficacious for metachromatic leukodystrophy, but failure for Hunter syndrome. 6<sup>th</sup> Internat Congress of Inborn Errors of Metabolism, Milan, May 27-31, 1994: 72 (abst.)

Shapiro EG, Lockman LA, Balthazor M, et al. Neuropsychological outcomes of several storage diseases with and without bone marrow transplantation. *J Inherit Metab Dis*; 18: 413-29, 1995

Silva DS, Barth AL, Esposito AC, et al. Neurophysiological evaluation in cervical myelopathy in patients with mucopolysaccharidosis: the somatosensory and motor-evoked potentials. *JIEMS* 2: S25, 2014

Sohn YB, Cho SY, Park SW, et al. Phase I/II clinical trial of enzyme replacement therapy with idursulfase beta in patients with mucopolysaccharidosis II (Hunter Syndrome). *Orphanet J Rare Dis*; 8:42-50, 2013

Sohn YB, Cho SY, Lee J, et al. Safety and efficacy of enzyme replacement therapy with idursulfase beta in children aged younger than 6 years with Hunter syndrome. *Mol Genet Metab*; 114: 156-60, 2015

Solanki GA, Martin KW, Theroux MC, et al. Spinal involvement in mucopolysaccharidosis IVA (Morquio-Brailsford or Morquio A syndrome): presentation, diagnosis and management. *J Inherit Metab Dis*; 36: 339-55, 2013

Souillet G, Guffon N, Maire I, et al. Outcome of 27 patients with Hurler's syndrome transplanted either from related or unrelated haematopoietic stem cell sources. *Bone Marrow Transplantation*; 31: 1105-17, 2003

Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, et al. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab*; 107: 513-20, 2012

Tanjuakio J, Suzuki Y, Patel P, et al. Activities of daily living in patients with Hunter syndrome: impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Mol Genet Metab*; 114: 161-9, 2015

Tolar J, Orchard PJ. -L-iduronidase therapy for mucopolysaccharidosis type I. *Biologics Targets & Therapy*; 2: 743-51, 2008

Van Hoof F, Hers HG. Ultrastructure of the hepatic cells in Hurler's disease (gargoylism). *C. R. Hebdomadaires Seances Acad. Sci.* 259, 1281. 3, 1964

Vellodi A, Young E, Cooper A, et al. Long-term follow-up following bone marrow transplantation for Hunter disease. *J Inherit Metab Dis*; 22: 638-48, 1999

Vieira T, Schwartz I, Muñoz V, et al. Mucopolysaccharidoses in Brazil: What happens from birth to biochemical diagnosis? *Am J Med Genet Part A* 146A:1741. 7, 2008

Wagner JE. Umbilical cord blood stem cell transplantation. *Am J Ped Hematol Oncol* 15: 169-74, 1993

Walker RWM, Darowski M, Morris P, et al. Anaesthesia and mucopolysaccharidoses. *Anaesthesia*; 49: 1078-84, 1994

Walker R, Belani KG, Braulin EA, et al. Anaesthesia and airway management in mucopolysaccharidosis. *J. Inherit Metab Dis*; 36: 211-9, 2013

Wang J, Luan Z, Jiang H, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in 34 pediatric cases of mucopolysaccharidosis. a 10-year report from China Children Transplant Group. *Biol Blood Marrow Transpl*; 22: 2104-8, 2016

Warketin PI, Dixon MS, Shafer I, et al. Bone Marrow transplantation in Hunter syndrome: a preliminary report. *Birth Defects Orig Artic Ser*; 22: 31-9, 1986

Wraith JE, Beck M, Lane R, et al. Enzyme replacement therapy in patients who have mucopolysaccharidosis I and are younger than 5 years: results of a multinational study of recombinant human alpha-L-iduronidase (laronidase). *Pediatr*; 120: e37-46, 2007

Wynn RF, Wraith JE, Mercer J, et al. Improved metabolic correction in patients with lysosomal storage disease treated with hematopoietic stem cell transplant compared with enzyme replacement therapy. *J Pediatr*; 154: 609-11, 2009

Young ID e Harper PS. The natural history of severe form of Hunter's syndrome: a study based on 52 cases. *Dev Med Child Neurol*; 25: 481-9, 1983

## 9 APÊNDICE

Tabela 6 . Referências bibliográficas selecionadas após a busca nas bases de dados Pubmed, Lilacs, Scielo e Scopus

Kubaski F <i>et al.</i>	Hematopoietic stem cell transplantation for patients with mucopolysaccharidosis type II	Mol Genet Metab.; 120: S77; 2017
Muschol NM <i>et al.</i>	Clinical outcome after hematopoietic stem cell transplantation in two patients with Hunter syndrome	Mol Genet Metab.; 117: S84; 2016
Wang J <i>et al.</i>	Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in thirty-four pediatric cases of mucopolysaccharidosis- A ten-year report from the China children transplant group	Biol Blood Marrow Transplant.; 22:2104-8, 2016
Cagle S	Clinical outcomes and biochemical data following hematopoietic stem cell transplantation in a patient with Hunter syndrome	Mol Genet Metab.; 114: S28, 2015
Tanjuakio J <i>et al.</i>	Activities of daily living in patients with Hunter syndrome: impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation	Mol Genet Metab.; 114:161-9, 2015
Patel P <i>et al.</i>	Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell therapy on growth in patients with Hunter syndrome	Mol Genet Metab Rep.; 1:184-96, 2014
Annibali R <i>et al.</i>	Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis type II), severe phenotype: long term follow-up on patients undergone to hematopoietic stem cell transplantation	Minerva Pediatr.; 65:487-96, 2013
Escolar M <i>et al.</i>	Longterm outcomes of patients receiving umbilical blood stem cell transplantation for MPS II	Mol Genet Metab.; 108: S37, 2012
Tanaka A <i>et al.</i>	Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: a nationwide survey in Japan	Mol Genet Metab.; 107:513-20, 2012
Poe M <i>et al.</i>	MPS II: developmental outcomes after hematopoietic stem cell transplantation	Mol Genet Metab.; 102: S36, 2011
Araya K <i>et al.</i>	Localized donor cells in brain of a Hunter disease patient after cord blood stem cell transplantation	Mol Genet Metab.; 98:255-63, 2009
Guffon N <i>et al.</i>	Bone marrow transplantation in children with Hunter syndrome: outcome after 7 to 17 years	J Pediatr.; 154:733-7, 2009

Escolar ML <i>et al.</i>	Neurodevelopmental outcomes of children with MPS II after unrelated umbilical cord blood transplantation	Biol Blood Marrow Transplant., 13: 63, 2007
Ochiai T <i>et al.</i>	Ultrastructural findings of cutaneous nerves in patients with Hunter's syndrome following hematopoietic stem cell transplant	Med Mol Morphol.; 38:118-22, 2005
Ito K <i>et al.</i>	The effect of haematopoietic stem cell transplant on papules with 'pebbly' appearance in Hunter's syndrome	Br J Dermatol.; 151:207-11, 2004
Isoyama K <i>et al.</i>	Unrelated cordbloodtransplantation for second hemopoietic stemcelltransplantation	Pediatr Int.;45:268-74, 2003
Mullen CA <i>et al.</i>	Unrelated umbilical cord blood transplantation in infancy for mucopolysaccharidosis type IIB (Hunter syndrome) complicated by autoimmune hemolytic anemia	Bone Marrow Transplant.; 25:1093-7, 2000
Coppa GV <i>et al.</i>	Bone marrow transplantation in a Hunter patient with P266H mutation	Int J Mol Med.; 4:433-6, 1999
Vellodi A <i>et al.</i>	Long-term follow-up following bone marrow transplantation for Hunter disease	J Inherit Metab Dis.; 22:638-48, 1999
Li P <i>et al.</i>	Biochemical and molecular analysis in a patient with the severe form of Hunter syndrome after bone marrow transplantation	Am J Med Genet.; 64:531-5, 1996
McKinnis EJ <i>et al.</i>	Bone marrow transplantation in Hunter syndrome	J Pediatr.; 129:145-8, 1996
Coppa GV <i>et al.</i>	Bone marrow transplantation in Hunter syndrome (mucopolysaccharidosis type II): two-year follow-up of the first Italian patient and review of the literature	Pediatr Med Chir.; 17:227-35, 1995
Bergstrom SK <i>et al.</i>	Long-term follow-up of a patient transplanted for Hunter's disease type IIB: a case report and literature review	Bone Marrow Transplant.; 14:653-8, 1994
Miniero R <i>et al.</i>	Use of G-CSF in a patient with Hunter syndrome receiving bone marrow transplantation	Am J Hematol.; 47:59-60, 1994
Imaizumi M <i>et al.</i>	Long-term effects of bone marrow transplantation for inborn errors of metabolism: a study of four patients with lysosomal storage diseases	Acta Paediatr Jpn.; 36:30-6, 1994
Warkentin PI <i>et al.</i>	Bone marrow transplantation in Hunter syndrome: a preliminary report	Birth Defects Orig Artic Ser.; 22:31-9, 1986

Tabela 7 . Referências bibliográficas selecionadas após leitura dos artigos da Tabela 6

Hugh-Jones K, <i>et al</i>	Bone marrow transplantation for mucopolysaccharidosis	Molecular basis of lysosomal storage disease, Academic Press, 1984; 411-28
Hobbs JR <i>et al</i>	Lysosomal enzyme replacement therapy by displacement bone marrow transplantation with immune prophylaxis	Adv Clin Enzymol. 1986; 3: 184
Warketin PI <i>et al</i>	Correction of Hunter syndrome with bone marrow transplantation: a three year follow up report	1 <sup>st</sup> Internat Congress MPS and Related Diseases, Minneapolis, May 20-22, 1988: 71 (abst.)
Persyk A <i>et al</i>	Bone marrow transplantation for Hunter syndrome (MPS II): evidence for selective histologic improvement one year post transplant	5 <sup>th</sup> Internat Congress of Inborn Errors of Metabolism, Asilomar, Jun 1-5, 1990: 80 (abst.)
Harris RE <i>et al</i>	Bone Marrow transplantation for Hunter syndrome	Correction of certain genetic diseases by transplantation, COGENT Trust, London, 1992: 23
Wagner JE	Umbilical cord blood stem cell transplantation	Am J Ped Hematol Oncol 15: 169-74, 1993
Scott CR <i>et al</i>	Bone marrow transplantation (BMT) for genetic storage diseases: efficacious for metachromatic leukodistrophy, but failure for Hunter syndrome	6 <sup>th</sup> Internat Congress of Inborn Errors of Metabolism, Milan, May 27-31, 1994: 72 (abst.)
Krivit W, Shapiro EG	Bone marrow transplantation for storage diseases	Treatment of genetic diseases, Curchill-Livingstone, 1991: 203
Hug G <i>et al</i>	Bone marrow transplantation of Hunter disease: biochemical findings and changes in %abnormal lysosomes+of liver and skin	3 <sup>rd</sup> Internat Symposium on MPS and Related Diseases, Essen, May 28-31, 1993 (abst.)
Shapiro EG <i>et al</i>	Neuropsychological outcomes of several storage diseases with and without bone marrow transplantation	J Inherit Metab Dis.; 18: 413-29, 1995



Contents lists available at ScienceDirect

## Molecular Genetics and Metabolism Reports

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ymgmr](http://www.elsevier.com/locate/ymgmr)

## Case Report

## Early hematopoietic stem cell transplantation in a patient with severe mucopolysaccharidosis II: A 7 years follow-up



Anneliese L. Barth<sup>a,\*</sup>, Tatiana S.P.C. de Magalhães<sup>a</sup>, Ana Beatriz R. Reis<sup>a</sup>,  
 Maria Lúcia de Oliveira<sup>b</sup>, Fernanda B. Scalco<sup>b</sup>, Nicolette C. Cavalcanti<sup>a</sup>, Daniel S. e Silva<sup>a</sup>,  
 Danielle A. Torres<sup>a</sup>, Alessandra A.P. Costa<sup>a</sup>, Carmem Bonfim<sup>c</sup>, Roberto Giugliani<sup>d</sup>,  
 Juan C. Llerena Jr.<sup>a</sup>, Dafne D.G. Horovitz<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Piquinho - Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>b</sup> Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>c</sup> Bone Marrow Transplantation Unit, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

<sup>d</sup> Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Alagoa, Porto Alegre, Brazil

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Mucopolysaccharidosis

Hematopoietic stem cell transplantation

Neurocognition

## ABSTRACT

Mucopolysaccharidosis type II (MPS II - Hunter syndrome) is an X-linked lysosomal storage disorder caused by a deficiency in the enzyme iduronate-2 sulfatase (IDS), leading to the accumulation of the glycosaminoglycans, affecting multiple organs and systems. Enzyme replacement therapy does not cross the blood brain barrier, limiting results in neurological forms of the disease. Another option of treatment for severe MPS, hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has become the treatment of choice for the severe form of MPS type I, since it can preserve neurocognition when performed early in the course of the disease. To date, only few studies have examined the long-term outcomes of HSCT in patients with MPS II. We describe the seven-year follow-up of a genetically diagnosed MPS II boy with positive family history of severe MPS form, submitted to HSCT with umbilical cord blood cells at 70 days of age. Engraftment after 30 days revealed mixed chimerism with 79% donor cells; after 7 years engraftment remains at 80%. IDS activity 30 days post-transplant was low in plasma and normal in leukocytes and the same pattern is observed to date. At age 7 years growth charts are normal and he is very healthy, although mild signs of dysostosis multiplex are present, as well as hearing loss. The neuropsychological evaluation (Wechsler Intelligence Scale for Children - Fourth Edition - WISC-IV), disclosed an IQ of 47. Despite this low measured IQ, the patient continues to show improvements in cognitive, language and motor skills, being quite functional. We believe that HSCT is a therapeutic option for MPS II patients with the severe phenotype, as it could preserve neurocognition or even halt neurodegeneration, provided strict selection criteria are followed.

## 1. Introduction

Mucopolysaccharidosis type II (MPS II, Hunter syndrome, OMIM 309900) is an X-linked lysosomal storage disorder caused by a deficiency in the enzyme iduronate-2 sulfatase (IDS), leading to the accumulation of the glycosaminoglycans (GAGs) dermatan sulfate and heparan sulfate [1]. The excessive storage of these GAGs both intracellularly and extracellularly leads to the clinical features of the disease.

MPS II affects multiple organs and systems with a variable age of onset of signs and symptoms. Two clinical presentations of Hunter syndrome have been reported, the mild, or attenuated, and the severe

form. The severe phenotype, with primary neural parenchymal disease is referred as neuroopathic MPS II and the mild phenotype, without neural parenchymal involvement, as nonneuropathic MPS II. The distinguishing factor between the 2 forms is the presence, or absence, of progressive intellectual deterioration. Both phenotypes exhibit cardiorespiratory and skeletal disease [2].

Historically, the management of Hunter syndrome was directed to the specific disease symptoms and complications regardless the phenotype. In 2006, recombinant human IDS (Idursulfase, Elaprase®, Shire Human Genetics Therapies, Inc., Cambridge, MA, USA) was approved for the treatment of Hunter syndrome in the United States, followed by approval in many other countries [3]. The drug showed to improve

\* Corresponding author.

E-mail address: [annalbarth@fiocruz.br](mailto:annalbarth@fiocruz.br) (A.L. Barth).

many of the somatic manifestations, but since idursulfase is not predicted to cross the blood-brain barrier, the treatment cannot alter the cognitive deterioration associated with the disease in patients with severe MPS II [45].

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has become the treatment of choice for the severe form of mucopolysaccharidosis type I (Hurler syndrome) since it can preserve neurocognition when performed early in the course of the disease [6–10]. HSCT has also been performed in other MPS (non-MPS I), although often only evaluated as part of a larger heterogeneous cohort of transplanted patients with multiple metabolic diseases or as few case reports and with variable results [11–13]. Compared to Hurler syndrome, the overall experience in the use of HSCT for treatment of other MPSs (II, III, IV, VI and VII) is very limited. Nevertheless, the scientific basis for effectiveness of HSCT across the MPS spectrum remains the same: donor-derived cells would secrete the deficient enzyme, which would be recaptured by surrounding cells. The kinetics of cellular migration, differentiation, distribution and effective enzyme delivery, however, may differ among MPS subtypes.

The majority of clinical experience of HSCT in MPS II patients comes from observations of case studies. To date, only few authors have examined the long-term outcomes of HSCT in groups of patients with MPS II. In these studies, HSCT was found to increase or normalize IDS activity in leukocytes, but not in serum, and was associated with decreased or normalized urinary GAG excretion. In 2009, a French report on 8 boys with Hurler syndrome treated with BMT at 3 to 16 years and followed for 7 to 17 years showed an excellent survival rate, stabilization of cardiovascular problems, resolution of hepatosplenomegaly, improvement in joint stiffness, arrested progression of perceptual hearing defect and improvement in transmission hearing defects. Improvements in neuropsychological function, however, were variable and appeared to be related to disease severity at transplant [14]. Lack of neurologic improvement was also described in 3 BMT recipients in a 1999 report with ages varying from 10 months to 5 years [15]. In a recent report of the China Children Transplant Group including 34 MPS children who underwent HSCT (12 MPS II), patients both with MPS I and II aged 2 to 6 years at transplant showed some improvements in motor and speech skills, suggesting that HSCT was also beneficial in improving mental development in MPS II patients [16].

Although benefits have been observed regarding the somatic features of the disease, the role of HSCT in MPS II remains controversial because of lack of convincing evidence of neurocognitive benefit. Despite the available reports, there are still no published data on HSCT in very young, early stage, or asymptomatic children with the neuropathic MPS II phenotype.

## 2. Case report

We describe the seven years follow-up of a MPS II child submitted to HSCT with umbilical cord blood cells at 70 days of age, preceded by ERT. He was prenatally investigated due to positive family history, as there were an older brother and an uncle diagnosed with Hurler syndrome, both with the severe phenotype. Undetectable iduronate-2-sulfatase (IDS) activity and the familial p.Arg88His mutation on exon 3 (p.R88H) were detected in fibroblasts of the amniotic fluid. This is a missense mutation already reported and associated with the severe phenotype of MPS II [17–19].

The patient was born at gestational age of 37 weeks and 2 days by cesarean section due to nonprogression of vaginal delivery, weighing 3.320 g (50th centile), birth length of 51 cm (50th centile) and a head circumference of 34 cm (50th centile).

Discrete lysosomal storage in endothelial cells and in pericytes was observed in placental analysis by electronic microscopy (previously described by [20]). Enzyme IDS activity re-confirmed the diagnosis of MPS II in plasma [1.2 nmol/4 h/ml (ref = 122–463)] and leukocytes [4.3 nmol/4 h/mg/protein (ref = 31–110)].

At birth, neurological examination showed generalized hyperexcitability. Very discrete lumbar gibbus was observed and the X-ray survey demonstrated discrete irregularity on the anterior face of vertebral bodies L3, L4 and L5 (patient I in [21]).

Abdominal and cerebral ultrasound, echocardiogram, ophthalmology, audiology, pulmonary function, brain and spine MRI were normal, except for a discrete enlargement of CSF space posterior to the cerebellum. His neuropsychological evaluation with 1 month and 8 days of life using the Bayley Scales of Infant and Toddler Development-Third Edition (Bayley-III) demonstrated a cognitive score of 75, a language score of 74 and a motor score of 79.

At 19 days of life he presented fever and upper airways infection, leading to hospital admission and intravenous antibiotic treatment for 10 days (6 days of ampicillin, 3 days of gentamicin, 3 days of cefotaxime and 4 days of ceftriaxone).

He received 6 weekly infusions of 0.5 mg/kg idursulfase from age 10 days until the transplantation, without any adverse reaction. The response to ERT was evaluated with urinary GAG analysis. The baseline GAG level at 10 days of age was 2000 mg/g creatinine (upper limit of normal: 170 mg/g creatinine), which fell to 500 mg/g creatinine after 6 infusions of ERT.

## 3. Transplant, engraftment and enzyme studies

HSCT with umbilical cord blood from HLA non-identical unrelated donor (match 5/6) was performed at 70 days of age. HLA typing and donor match were successful during pregnancy, and the match was reconfirmed after birth. Conditioning regimen consisted of busulfan 320 mg/m<sup>2</sup>, cyclophosphamide 200 mg/kg and thymoglobulin 5 mg/kg. He received a combination of cyclosporin and corticosteroid as graft-versus-host disease prophylaxis.

Engraftment after 30 days revealed mixed chimerism with 79% donor cells and after 7 years engraftment remains at 80%. IDS activity 30 days post-transplant was low in plasma (22 nmol/4 h/ml; ref. = 122–463) and normal in leukocytes (40 nmol/4 h/mg protein; ref. = 31–110); 270 days, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 years after transplant the same pattern was observed.

At 75 days post-transplant, routine laboratory tests revealed positive antibodies for cytomegalovirus. He began intravenous ganciclovir 10 mg/kg/day and continued the treatment for 6 months.

Urinary glycosaminoglycans (GAG) began to decrease during ERT and reached the normal range 3 months post-transplant (135 mg/g creatinine). At the moment, GAG levels are within the normal range for age-matched control (60 mg/g creatinine).

## 4. Follow-up and development

Motor milestones were all normal for age. His most recent motor evaluation, with 7 years disclosed adequate muscle tone, strength and joint range of motion within the normal range.

His speech development, however, has been slower. An auditory evoked response test performed at 5 years was compatible with moderate hearing loss. He began to use a hearing device and started to speak short phrases soon thereafter.

The patient always manifested increased general activity and as of 3 years of age he demonstrated aggressive behavior. Despite showing benefit after introduction of the hearing aid and decrease of aggressiveness, hyperactive behavior is still present.

At age 7 years growth charts are normal; he weighs 39 kg (> 90th centile), standing height is 129 cm (90th centile) and head circumference is 53 cm (75th centile). Motor development is also normal; he has no skeletal problems, joint contractures or claw hands. He has never had coarse facial features, corneal clouding or hepatosplenomegaly. Physical examination discloses only short hands with stubby digits, which is in agreement with previous reports of those transplanted with the severe phenotype – Fig. 1 [22].



Fig. 1. Transplanted MPS II patient at age 7 years. (A): no joint contractures. (B) no MPS phenotype. (C) no claw hands.



Fig. 2. Mild Dynamic Multiplex in the transplanted MPS II boy. (A) Hands: shortened and proximal pointing of metacarpals, hypoplasia of carpal. (B) Pelvis: round iliac wings and inferior iliac spurring. (C) Long bones: defect of linear growth with thickened diaphyses. (D) Skull: thickened calvaria. (E) Spine: inferiorly beaked vertebrae and platyspondyly in lumbar spine.

Most recent evaluations performed at age of 7 years revealed normal brain CT and normal upper airway fiberoptic findings. Echocardiogram demonstrated completely normal cardiac function with no signs of valvar dysfunction. MRI of the brain discloses mild cerebellar hypoplasia, in accordance to the findings on the first exam in the newborn period. MRI of the spine was normal and X-rays showed very mild signs of dysostosis multiplex – Fig. 2.

Upper limb somatosensory evoked potentials show of N20 cortical waves with normal latencies after stimuli of ulnar nerves. Lower limb somatosensory evoked potentials showed P37 cortical waves with prolonged latencies and prolonged central conduction time after stimuli of posterior tibial nerves at 6.5 years. The neurophysiological findings

demonstrate compromise of the sensory conduction in the posterior columns. Such finding is in accordance to somatosensory abnormalities found in MPS patients, although his findings are milder when compared to nontransplanted patients [23].

Neuropsychological evaluation with 1 year and 11 months, 20 months after HSCT transplantation using the Bayley-III scale show of cognitive score of 90, language score of 74 and motor score of 94. At 4 years and 3 months and at 6 years and 1 month, his IQ measured through Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence - Third Edition (WPPSI-III Wechsler, 2002) was 57 and 50, respectively. In the last neuropsychological evaluation with 7 years and 2 months using the Wechsler Intelligence Scale for Children - Fourth Edition (WISC-IV), his

**Table 1**  
Family comparative information about motor and neurodevelopmental milestones.

	Propositus	Older brother (deceased 1.2 years)	Uncle (deceased 20 years)
<b>Diagnosis</b>	Pre-natal	4 years	8 years
<b>ERT/HSCT</b>	6 ERT infusions followed by HSCT	Started ERT at 6 years	Never received ERT
<b>Head support</b>	2 months	4–5 months	6 months
<b>Sit unaided</b>	5 months	8–9 months	9 months
<b>Walked</b>	5–6 months	After 1 year	1 year and 6 months
<b>Crawled</b>	7 months	10 months	1 year
<b>Walked unaided</b>	1 year	1 year and 1 month	1 year and 8 months
<b>Toler trained</b>	4 years	Never	Never
<b>Self-feeding</b>	3 years	Never	Never
<b>Shows unaided</b>	5 years	Never	Never
<b>Reading/writing</b>	Beginning to read and write	Never	Never
<b>Hidrophobia/shunt placement</b>	Never	4 years	8 months
<b>Dropped walking</b>	–	10 years	10 years

measured IQ was 47, being working memory and verbal comprehension indexes his worst scores.

## 5. Discussion

HSCT has been performed in several lysosomal storage disorders with different degrees of success [14]. In Hunter syndrome, the results have been highly variable, with the majority of patients showing improvements of their somatic features and different responses regarding the neuropsychological outcome [14,15,22,24,25].

When indicated in MPS (consensus for severe MPS I), HSCT should be performed as early as possible as an attempt to avoid neurologic deterioration. The patient described here is one of the youngest MPS II patients to have received HSCT so far; there is one patient reported to have been transplanted at 1.5 months [26]. Our described patient had the prediction of a severe phenotype proven both by the family history and the genotype [17–19].

Since ERT significantly improves patient's pre-transplant condition (improving respiratory and cardiac function), is well tolerated and does not negatively influence engraftment, we chose to start ERT prior to HSCT [9]. The initial idea was to continue ERT even after the transplant, until blood enzyme activity was normal and he had a good engraftment. Since the patient was transplanted in another Brazilian state, however, ERT was interrupted before the family travelled to the transplant site due to reimbursement issues.

Literature data show that patients with MPS I have more hearing improvement after HSCT in comparison to ERT [22,27]. The small number of MPS II patients treated with HSCT makes it difficult to draw any meaningful conclusion regarding hearing improvement in this population. According to da Costa et al., HSCT at an early stage (< 25 months) in MPS II patients does have a significant correlation to hearing improvement [28]. Despite having been undertaken at an early stage, HSCT seems not to have prevented the sensorineural hearing loss in our patient. His poor behavior impeded a more complete audiological assessment, besides auditory brainstem responses (ABRs), so the conductive component could not be tested. Nevertheless, he has never presented any episode of otitis media, which is known to occur in 92% of MPS II patients and is a major contributor to conductive hearing loss [2].

The CMV infection after transplantation, although only positive antigenemia was present and no clinical signs of infection were observed, as well as medications used prior and post-transplant, may have contributed to the hearing loss and confounded our data. Of note,

ganciclovir and gentamicin are well known ototoxic drugs [29].

Regarding the neuropsychological evaluations, the lower cognitive score presented in patient's first evaluation at 36 days-old could have been influenced by the time he spent hospitalized (at 19 days of age due to upper airway infection), then improved in the second evaluation. It is important to mention that the Bayley scale is not predictive in regards of a child's performance as human development is complex and dynamic.

Unfortunately we had to use 3 different tests to evaluate patient's DQ/IQ due to age limitation of the scales. Moreover, these scales are only translated to Portuguese and not validated in the Brazilian population, so cultural and socioeconomic biases could have contributed to the low performance. Another weakness of the neuropsychological evaluation was the use of WISC test, a heavily language based evaluation, that may have been influenced by his hearing loss and resulted in poor performance. It is worthwhile to mention that our patient has never attended physical, occupational or language therapies, although strongly recommended, which could have improved his performance in the cognitive tests.

Literature shows that severe Hunter patients improve their cognitive function until they reach a plateau at approximately 48 to 55 months of age and thereafter it declines rapidly [2]. Our patient is keeping a relatively stable IQ, which implies he is gaining skills at an almost normal rate. In fact, he is a very functional child who attends regular school (although a bit delayed for chronological age), interacts well with other children, practices sports, sits unaided and plays videogame. In the Pediatric Evaluation of Disability Inventory (PEDI), functional skills section, he scored 156 out of 197, showing a quite good functional performance or at least much better than expected for a boy of his age with the neurocognitive MPS II phenotype. We have also assessed the activities of daily living (ADL) through ADL questionnaire for patients with Hunter syndrome designed by Tadjuki [30]. In this instrument he obtained a score of 43 out of a total of 60, which is among the highest for patients with the severe phenotype.

When comparing him to the other MPS II relatives in the family (a deceased older brother at age 12, who began ERT at the age of 6 years and a deceased 20 year old severely bedridden uncle diagnosed at 8 years, who had never been treated with ERT), his is doing much better. Table 1 and Figs. 3 and 4 show differences in development and phenotype between the propositus and the other affected in the family.

In regards to transplant in diseases with neurologic progression, it seems that if the procedure is performed very early in the disease process, more neurocognitive benefits would occur. For the brain, it has been observed that donor-derived macrophages cross the blood-brain barrier with subsequent differentiation into microglia, secreting the deficient enzyme for capture by surrounding neurons. The timing of migration to and engraftment of donor-derived microglial cells after HSCT is not known, but probably, on the basis of clinical observation, it takes months after hematologic engraftment. Thus, an explanation for the failure of HSCT to prevent mental deterioration in certain patients could be the slow pace of replacement of patient tissue macrophages and microglia populations by donor hematopoietic cell progeny limiting the success for rapidly progressive neurologic diseases ([31,32]).

It is important to point out that the majority of the available literature on HSCT in MPS II patients is outdated. There are only few case reports, showing no rigid selection criteria of the candidates, who were from different age groups and already presented signs of cerebral involvement at the time of transplantation, reasons that may have influenced the unsuccessful outcomes of transplantation. After 2006, with the approval of Elaprase®, ERT became the treatment of choice for Hunter patients. Even though the intravenous therapy is known not to cross the BBB, being unable to prevent neurodegeneration in the severe form of MPS II, for some reason it seems that HSCT was discouraged and no longer performed. We consider that HSCT for MPS II patients is still an unexplored alternative which can bring more neurological benefits than ERT.



Fig. 3. Clinical phenotype of the probanda (A), his older brother (B) and uncle (C) at age 6 years. The probanda at age 4 years and his brother at age 12 years (D). The probanda at age 7 years and his uncle at age 20 years (E).

It is also still worth mentioning that > 10 years ago HSCT in MPS patients was limited by lack of donor availability, high rates of graft failure and transplantation-related morbidity and mortality. Nowadays, the observed high engrafted survival rates with reduced toxicity and complications, due to the new transplant protocols and techniques [6,16], along with superior metabolic correction compared with ERT [15], all together with a more careful and meticulous selection of patients, may enable the extension of HSCT indication for MPS II patients.

Whether transplantation prior to the onset of neurological symptoms would prevent a severe outcome has yet to be proven in patients with MPS II. Longer follow-up and reports of further early transplanted cases are still necessary. Noteworthy, our patient, instead of losing cognitive skills as expected for a MPS II boy at his age, continues to acquire cognitive, adaptive and language skills, although at a slower rate when compared to unaffected children. This case is probably the first long-term and detailed report to demonstrate that HSCT performed very early in the course of the disease may be able to preserve cognition as our patient shows a continuous gain in skills, albeit at a slower rate than unaffected children.

## 6. Conclusions

We believe that HSCT is a therapeutic option for MPS II patients

with the severe phenotype, as it could preserve neurocognition or even halt neurodegeneration, provided strict selection criteria are followed. The new protocols and techniques of transplantation have made the procedure more accessible and secure for the patients. HSCT could be considered a most suitable option for the patient and family, as no weekly lifelong infusions would be needed. Regarding public health policy, we dare to consider it as an interesting treatment option, both due to efficacy and to the lower overall therapy cost when compared to ERT for life.

## Competing interests

A. L. Barth has received educational travel grants and/or speaker honoraria from Biomarin, Shire and Sanofi Genzyme; TSPC Magalhães is currently an employer of Biomarin; R. Giugliani has received investigator fees, speaker honoraria, and travel grants from Actelion, Amicus, Amgen, Biomarin, Sanofi Genzyme, Shire and Ultragenyx; DA Torres has received educational travel grants and/or speaker honoraria from Biomarin and Shire; JC Llerena Jr. has received educational travel grants and/or speaker honoraria from Biomarin, Shire and Sanofi Genzyme; DDG Horvitz has received educational travel grants and/or speaker honoraria from Biomarin, Shire, Sanofi Genzyme and Ultragenyx; ABR Reiz; MLC Oliveira; FB Sealeo; NC Cavalcanti; DS

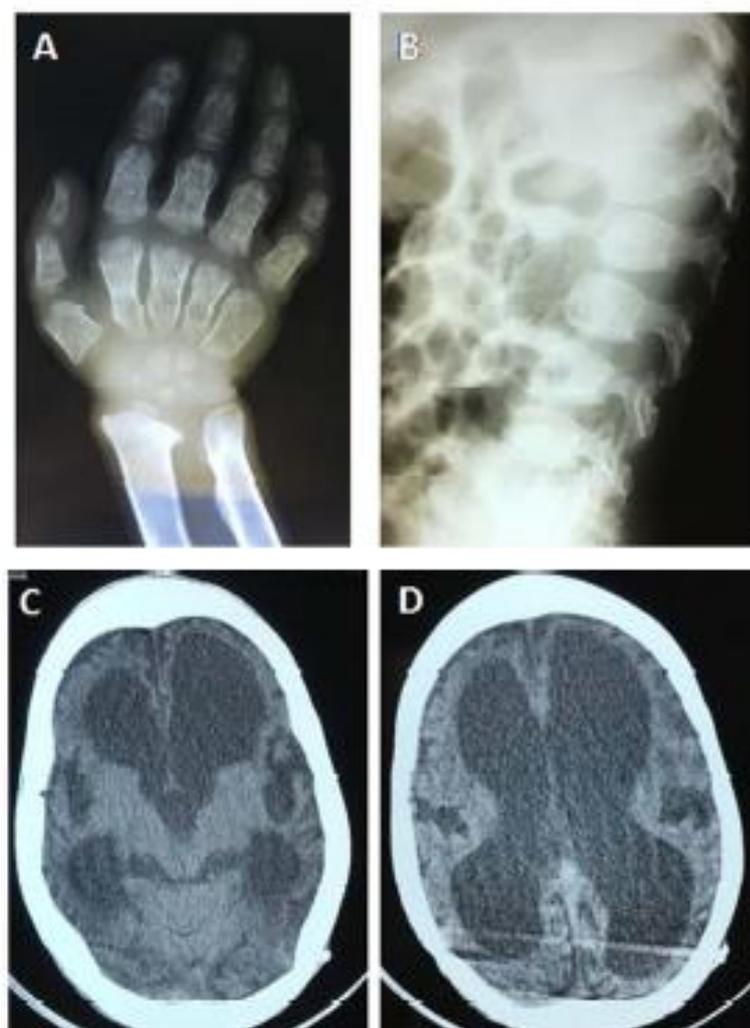


Fig. 4. Proximal hand ends at 7 years. X-Ray images showing signs of severe dysostosis multiplex in the hand (A) - proximal pointing of metacarpals, shortened metacarpals and carpal hypoplasia - and spine (B) - abnormal modeling and inferiorly beaked vertebrae. Cranial computed tomography (C) and (D) showing enlargement of the supratentorial ventricles and cortical atrophy, even after shunting.

Silva; AAP Costa and C. Boufim have no competing interests.

#### Acknowledgments

The authors thank Drs Máira Burin, Ma Schwartz, Sandra Leitner-Segal, Guilherme Baldo, Rejane Gus Kessler and the Brazilian MPS Network, all based at MGS/HCPA/UFRGS - Brazil, for the pretrial diagnosis support, enzyme and molecular studies; Leonardo Lima Ribeiro and Giselle Lech from BMT Unit/UFRP - Brazil, for the medical support during HSCT.

#### References

- [1] E.P. Neufeld, J. Maser, The Mucopolysaccharidoses, in: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle (Eds.), *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, 8th ed, McGraw-Hill, New York, 2001, pp. 3421–3452.
- [2] J.B. Holt, M.D. Poe, M.L. Escolar, Natural progression of neurological disease in mucopolysaccharidosis type II, *Pediatrics* 127 (2011) e1258–e1265.
- [3] J. Maser, C. Bodamer, B. Burton, L. Clarke, et al., The role of enzyme replacement therapy in severe Hunter syndrome – an expert panel consensus, *Eur. J. Pediatr.* 171 (2012) 181–188.
- [4] R.J. Boudo, E.K. Hui, J.Z. Lu, R.K. Sankaria, W.M. Partridge, Blood-brain barrier molecular Trojan horse enables imaging of brain uptake of radiolabeled membrane protein in the mouse brain, *Bioconjug. Chem.* 24 (2013) 1741–1749.
- [5] C. Lampe, A.K. Buecherhoff, B.E. Burton, R. Giugliani, et al., Long-term experience with enzyme replacement therapy (ERT) in MPS II patients with a severe phenotype: an international case, *J. Inher. Metab. Dis.* 37 (2014) 823–829.
- [6] M. Aldenhoven, R.F. Wynn, P.J. Orchard, A. O'Meara, et al., Long-term outcome of Hunter syndrome patients after hematopoietic cell transplantation: an international multicenter study, *Blood* 125 (2015) 2164–2172.
- [7] A. Gosh, W. Miller, P.J. Orchard, S.A. Jones, et al., Enzyme replacement therapy prior to hematopoietic stem cell transplantation in mucopolysaccharidosis type I: 10 year combined experience of 2 centers, *Mol. Genet. Metab.* 117 (2016) 373–377.
- [8] M.D. Poe, S.L. Chagnon, M.L. Escolar, Early treatment is associated with improved cognition in Hunter syndrome, *Ann. Neurol.* 76 (2014) 747–753.
- [9] M.H. de Ra, J.J. Brokema, A.M. Da, S.A. Jones, et al., Enzyme replacement therapy and/or hematopoietic stem cell transplantation as diagnosis in patients with mucopolysaccharidosis type I: results of a European consensus procedure, *Orphanet J. Rare Dis.* 6 (2011) 25.
- [10] J.R. Wright, M. Beck, B. Lane, A. van der Pijeg, et al., Enzyme replacement therapy in patients who have mucopolysaccharidosis I and are younger than 5 years: results of a multinational study of recombinant human alpha-L-iduronidase (aronidase), *Pediatrics* 120 (2007) e37–e46.
- [11] C. Peters, C.G. Stachert, Hematopoietic cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcomes and practice guidelines, *Bone Marrow Transplant.* 31 (2003) 229–239.
- [12] V.K. Prasad, A. Mendhathal, S.H. Parikh, P. Subramanian, et al., Unrelated donor umbilical cord blood transplantation for inherited metabolic disorders in 159 pediatric patients from a single center: influence of cellular composition of the graft on transplantation outcome, *Blood* 112 (2008) 2979–2989.
- [13] R.F. Wynn, J.E. Walsh, J. Mearns, et al., Improved metabolic correction in patients with lysosomal storage disease treated with hematopoietic stem cell transplant compared with enzyme replacement therapy, *J. Pediatr.* 154 (2009) 609–611.

- [14] N. Guffon, Y. Bertrand, I. Foveau, A. Soufflot, B. Poulasart, Bone marrow transplantation in children with Hunter syndrome: outcome after 7 to 17 years, *J. Pediatr.* 154 (2009) 733–737.
- [15] A. Valicelli, B. Young, A. Cooper, V. Lidchi, et al., Long-term follow-up following bone marrow transplantation for Hunter disease, *J. Inher. Metab. Dis.* 22 (1999) 639–648.
- [16] J. Wang, T. Luan, H. Jiang, J. Pang, et al., Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in 34 pediatric cases of mucopolysaccharidosis – a 10-year report from China children transplant group, *Biol. Blood Marrow Transplant.* 22 (2016) 2194–2198.
- [17] A.C. Bruma-Buchin, L.V.D. Schwart, C. Zimmer, M.G. Ribeiro, et al., Mucopolysaccharidosis type II: identification of 30 novel mutations among Latin American patients, *Mol. Genet. Metab.* 111 (2014) 133–138.
- [18] M.A.D. Chiong, D.M. Canaan, M.A.B. Abasco, M.M.P. Sakayot, C.P. Costales, C.L.T. Siles, Clinical, biochemical and molecular characterization of Filipino patients with mucopolysaccharidosis type II – Hunter syndrome, *Ophthalmol. J. Rare Dis.* 12 (2017) 7.
- [19] B. Poulasart, I.M. de Silva, I. Mahe, Mucopolysaccharidosis type II: an update on mutation spectrum, *Acta Paediatr.* 96 (2007) 71–77.
- [20] G. Baldo, U. Mann, O. Antignac, D.V. Schwartz, et al., Wavenumber analysis of presymptotically diagnosed patients reveals early GAG storage in mucopolysaccharidosis I and II, *Mol. Genet. Metab.* 103 (2011) 197–198.
- [21] C. Lampe, A. Achtern, B.E. Burton, M. Deschamps, et al., Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis II patients under 1 year of age, *JIMD Rep.* 14 (2014) 99–113.
- [22] G. Souflet, N. Guffon, I. Mahe, M. Pajzl, et al., Outcome of 27 patients with Hunter syndrome transplanted with or from related or unrelated hematopoietic stem cell sources, *Bone Marrow Transplant.* 31 (2003) 1105–1117.
- [23] D.S. Silva, A.L. Barth, A.C. Raposo, A.A.P. Costa, et al., Neurophysiological evaluation in cerebral myopathy in patients with mucopolysaccharidosis: the semi-rigidity and motor-evoked potentials, *JIMBS 2* (2014) 525.
- [24] R.J.R. McIlrora, S. Schaeber, J.C. Rutledge, J. Sanders, C.R. Scott, Bone marrow transplantation in Hunter syndrome, *J. Pediatr.* 129 (1996) 140–148.
- [25] A. Tanaka, T. Okuyama, Y. Suzuki, N. Sakai, et al., Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: a nationwide survey in Japan, *Mol. Genet. Metab.* 107 (2012) 513–520.
- [26] M. Reichs, M. Pev, D. Rajan, P. Sathidek, Long-term outcome of patients receiving umbilical blood stem cell transplantation for MPS II, *Mol. Genet. Metab.* 108 (2012) 537–538.
- [27] B.C. Pepin, A. Velick, C.M. Bailey, P.C. Banditta, S.E. Leighton, Otolgic and laryngologic manifestations of mucopolysaccharidosis after bone marrow transplantation, *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 118 (1998) 30–38.
- [28] V. de Costa, G. O'Grady, L. Jackson, D. Eagle, E. Baynes, Improvements in sensorineural hearing loss after cord blood transplant in patients with mucopolysaccharidosis, *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 138 (2012) 1071–1076.
- [29] G. Ciardone, D. Ferrariglo, Marel P. CiardoneF, et al., Pharmacological drugs inducing ototoxicity, vestibular symptoms and tinnitus: a reviewed and updated guide, *Int. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 15 (2011) 601–626.
- [30] J. Terajima, Y. Saito, P. Patel, E. Yasuda, et al., Activities of daily living in patients with Hunter syndrome: impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation, *Mol. Genet. Metab.* 114 (2015) 161–169.
- [31] M. Alldenbrown, J. Kumbarger, Cord blood is the optimal graft source for the treatment of pediatric patients with lysosomal storage diseases: clinical outcomes and future directions, *Cytotherapy* 17 (2015) 765–774.
- [32] B. Wynn, Stem cell transplantation in inherited metabolic disorders, *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2011 (2011) 285–291.